Aus dem Institut für Lebensmittelhygiene,
Fleischhygiene und -technologie,
Fachrichtung Lebensmittelhygiene, des
Fachbereiches Veterinärmedizin der
Freien Universität Berlin

Qualitätsbeurteilung von unpasteurisiertem Eiklar und Flüssigvollei anhand des mikrobiologischen Status, der tierischen Verunreinigungen sowie des Harnsäuregehaltes

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung des Grades eines
Doktors der Veterinärmedizin
an der
Freien Universität Berlin

vorgelegt von
Thomas Stuke
Tierarzt aus Herford

Berlin 1985
Journal-Nr. 1218

TREV.
LIBRARY
SOC.

Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41549619_0062

Druck: Copy-Center in Dahlem
Ladenbergstraße 2-4
1000 Berlin 33
Tel. 831 40 25

Aus dem Institut für Lebensmittelhygiene,
Fleischhygiene und -technologie,
Fachrichtung Lebensmittelhygiene, des
Fachbereiches Veterinärmedizin der
Freien Universität Berlin

Qualitätsbeurteilung von unpasteurisiertem Eiklar und Flüssigvollei anhand des mikrobiologischen Status, der tierischen Verunreinigungen sowie des Harnsäuregehaltes

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung des Grades eines
Doktors der Veterinärmedizin
an der
Freien Universität Berlin

vorgelegt von
Thomas Stuke
Tierarzt aus Herford

Berlin 1985
Journal-Nr. 1218

Gedruckt mit Genehmigung

des Fachbereiches Veterinärmedizin

der Freien Universität Berlin

Fachbereichssprecher:	Prof. Dr. F. Hörchner
Referent:	Prof. Dr. G. Hildebrandt
Korreferent:	Prof. Dr. G. Reuter

Tag der Promotion: 8. Februar 1985

I N H A L T S V E R Z E I C H N I S

		Seite
1.	EINLEITUNG	1
2.	LITERATUR	2
2.1	Definition, Bedeutung und Verwendung von Eiprodukten	2
2.1.1	Definition und Rechtsnormen	2
2.1.2	Wirtschaftliche Bedeutung	4
2.1.3	Verwendung	5
2.2	Technologie der Eiprodukte	8
2.3	Hygieneparameter	17
2.3.1	Keimspektrum	17
2.3.1.1	Kontamination vor dem Legen	18
2.3.1.2	Kontamination nach dem Legen	19
2.3.1.3	Antibakterielle Schutzmechanismen des Schaleneies	22
2.3.1.3.1	Physikalische Schutzeinrichtungen	22
2.3.1.3.2	Chemische Abwehrmaßnahmen	26
2.3.1.4	Mikrobiologie der unpasteurisierten Eiprodukte	29
2.3.2	pH-Wert	29
2.3.3	Verunreinigungen tierischer Art	31
2.3.3.1	Zum Inhalt des Begriffes "Filth"	31
2.3.3.2	Bedeutung des Filth-Testes	32
2.3.3.2.1	Rechtliche Stellung	34
2.3.3.3	Zur Methodik des Filth-Testes	35

		Seite
2.3.3.3.1	Selektive Anfärbungen	37
2.3.3.4	Fremdkörper im Ei	37
2.3.4	Harnsäure	38
2.3.4.1	Bildung von Harnsäure	38
2.3.4.2	Harnsäure als Indikatorsubstanz	40
3.	EIGENE UNTERSUCHUNGEN	43
3.1	Material und Probenentnahme	43
3.2	Methodik	45
3.2.1	Keimzahlbestimmung	45
3.2.1.1	Probenvorbereitung	45
3.2.1.2	Kulturverfahren	45
3.2.1.3	Auswertung	47
3.2.2	pH-Wert-Messung	48
3.2.3	Sensorische Untersuchung	48
3.2.4	Filth-Test	49
3.2.4.1	Färbung zur Identifizierung von Insektenfragmenten	49
3.2.4.1.1	Vorversuche zur Selektivfärbung im Eiprodukt	49
3.2.4.1.2	Probenaufbereitung	50
3.2.4.1.3	Filtration, Färbung mit Phloxin B und Transparenz	52
3.2.4.1.4	Mikroskopische Auswertung	55
3.2.4.2	Selektive Färbung von Haar- und Federpartikeln	56
3.2.4.2.1	Probenaufbereitung	56
3.2.4.2.2	Filtration, Färbung mit Remazolbrillantblau R und Transparenz	57
3.2.4.2.3	Mikroskopische Auswertung	59

		Seite
3.2.4.3	Färberischer Nachweis von Eischalenresten	59
3.2.4.3.1	Probenaufbereitung	59
3.2.4.3.2	Filtration, Färbung mit Silbernitrat und Transparenz	59
3.2.4.3.3	Mikroskopische Auswertung	62
3.2.5	Harnsäurebestimmung	62
3.2.5.1	Prinzip	62
3.2.5.2	Bestimmung der Eichgeraden	63
3.2.5.2.1	Reagenzien	64
3.2.5.2.2	Meßansatz	64
3.2.5.3	Harnsäurebestimmung in Flüssigeiklar	67
3.2.5.3.1	Material	67
3.2.5.3.2	Vorversuche zur Probenaufbereitung	68
3.2.5.3.3	Eiweißfällung mit Perchlorsäure	70
3.2.5.3.4	Wiederfindungsrate	71
3.2.5.4	Harnsäurebestimmung in Flüssigvollei	73
3.2.5.4.1	Material	73
3.2.5.4.2	Eiweißfällung mit Perchlorsäure	74
3.2.5.4.3	Wiederfindungsrate	74
3.3	Untersuchungsergebnisse	77
3.3.1	Einzeluntersuchung der im Frühjahr und Sommer entnommenen Flüssigeiprodukte des Handels	77
3.3.1.1	Keimstatus	77
3.3.1.2	pH-Wert	88
3.3.1.3	Sensorische Untersuchung	91
3.3.1.4	Verunreinigungen tierischer Art	91
3.3.1.5	Harnsäure	99

		Seite
4.	DISKUSSION	101
4.1	Kriterien der Eignungsbemessung	101
4.1.1	Keimstatus	101
4.1.2	pH-Wert	107
4.1.3	Verunreinigungen tierischer Art	109
4.1.4	Harnsäure	112
4.2	Auswahl eines geeigneten Hygienekriteriums	114
5.	ZUSAMMENFASSUNG	117
6.	SUMMARY	119
7.	LITERATURÜBERSICHT	121
8.	ANHANG	147

1. EINLEITUNG

Mit zunehmendem Proteinbedarf ist auch die Nachfrage für Hühnereier in der Bundesrepublik Deutschland von ungefähr 9 Milliarden Stück im Jahre 1956 auf nunmehr 17.5 Milliarden angestiegen. Ein erheblicher Prozentsatz wird zu Eiprodukten weiterverarbeitet, welche aufgrund ihrer funktionellen Eigenschaften überwiegend in der Back-, Süß- und Teigwarenindustrie Verwendung finden. Sie bilden darüber hinaus eine wesentliche Zutat vieler Feinkost- und Fleischerzeugnisse.

Weil der Einsatz von Eiprodukten ein beträchtliches hygienisches Risiko bedeutet, dürfen sie nicht unerhitzt in den Verkehr gelangen, vielmehr schreibt der Verordnungsgeber eine Behandlung mit Verfahren vor, durch die Salmonella-Bakterien und andere Enterobakteriazeen abgetötet werden. Während die Eiprodukte-VO detaillierte Probenahme- und Nachweistechniken für das pasteurisierte Lebensmittel enthält, fehlen entsprechende Regelungen zur Überprüfung des unbehandelten Ausgangsmaterials. Aber gerade die bakterielle Belastung des Rohstoffes wirkt sich entscheidend auf Qualität und Haltbarkeit des Endproduktes aus. Die Organisation von Eingangskontrollen, sofern sie auf objektiven Merkmalen des Hygienestatus basieren, liegt folglich im Interesse eiproduktherstellender Betriebe.

Aufgabe der vorliegenden Arbeit war es, unter verschiedenen mikrobiologischen, physikalischen und biochemischen Parametern ein zur Bewertung des Frischezustandes von unpasteurisierten Flüssigeiprodukten geeignetes Kriterium auszuwählen.

2. LITERATUR

2.1 Definition, Bedeutung und Verwendung von Eiprodukten

2.1.1 Definition und Rechtsnormen

Eine verbindliche Definition des Begriffs "Eiprodukt" in Verbindung mit lebensmittelrechtlichen Regelungen für den Umgang mit diesem Erzeugnis enthält die "Verordnung über gesundheitliche Anforderungen an Eiprodukte und deren Kennzeichnung (Eiprodukte-Verordnung)" (1975). Im Sinne dieser Verordnung gelten als Eiprodukte (§ 1):

1. Erzeugnisse aus Eiern von Hühnern, Perlhühnern, Puten, Enten, Gänsen oder Wachteln, insbesondere
   flüssiges Vollei (Flüssigei),
   flüssiges Eigelb,
   flüssiges Eiweiß (Eiklar, flüssiges Ei-Albumin),
   tiefgefrorenes Vollei (Gefriervollei),
   tiefgefrorenes Eigelb (Gefriereigelb),
   tiefgefrorenes Eiweiß (Gefriereiklar, gefrorenes Ei-Albumin),
   getrocknetes Vollei (Trockenvollei, Eipulver, Volleipulver),
   getrocknetes Eigelb (Trockeneigelb),
   getrocknetes Eiweiß (Trockeneiweiß, kristallisiertes Eiweiß, getrocknetes Ei-Albumin, Sprüheiweiß)
   auch im Gemisch untereinander oder eingedickt.

2. Erzeugnisse nach Nummer 1, denen Speisesalz, Zucker, Gewürze, Stärke, Getreideerzeugnisse oder andere Zusätze beigegeben sind, soweit der Anteil dieser Zusätze nicht

überwiegt.

Der § 2 legt die Anforderungen an das Ausgangsmaterial fest. Danach dürfen nicht verschmutzte Eier in der Schale einschließlich Fließ-, Knick- und Lichtsprungeier, Eier mit frisch verletzter Schalenhaut sowie gegebenenfalls Bruteier Verwendung finden.

In § 3 ist weiterhin festgelegt, daß Eiprodukte als Lebensmittel nur nach ausreichender Vorbehandlung in den Verkehr gebracht werden dürfen. Zum Schutz vor Infektion mit Salmonellen verlangt der Gesetzgeber damit die Anwendung eines Verfahrens, durch das Salmonella-Bakterien und andere Enterobakteriazeen in Eiprodukten abgetötet werden (§ 5). Nach Abschluß der Vorbehandlung bis zur Abgabe an den Verbraucher müssen Eiprodukte - mit Ausnahme der getrockneten und tiefgefrorenen Produkte - bei Temperaturen von höchstens 6°C gehalten werden. Außerdem sind sie so zu behandeln, daß sie keiner nachteiligen Beeinflussung beim Abfüllen oder Abpacken oder durch das Verpackungsmaterial ausgesetzt sind und eine Berührung mit nicht vorbehandelten Eiprodukten ausgeschlossen bleibt.

Anlage 2 zu den §§ 5, 6 und 8 schreibt für vorbehandelte Eiprodukte folgende Höchstkeimzahlen vor:
Frei von Salmonellen in 25 g, Gesamtkeimzahl 10^5/g und Abwesenheit von anderen Enterobakteriazeen in 1 g.

Als zweite Vorschrift sind auch die Vermarktungsnormen für Eier (1975) zu berücksichtigen, da hier sowohl der Begriff des "Industrieeies" geprägt wird als auch die Voraussetzungen festgelegt werden, unter denen bebrütete Eier Verwendung finden können. Nach Artikel 6 (1) dieser Verordnung werden die Eier in folgende Güteklassen eingeteilt:

Klasse A oder "frisch"
Klasse B oder "2. Qualität oder haltbar gemacht"
Klasse C oder "aussortiert, für die Lebensmittelindustrie bestimmt".

Bebrütete Eier können nur unter bestimmten Voraussetzungen in die Klasse C eingestuft werden, die im einzelnen in Artikel 6 (2) unter Ziffer a - f angeführt sind.

Während für Eier der Güteklasse A und B die einzelnen Qualitätsmerkmale in den Artikeln 7 und 8 angegeben sind, müssen "aussortierte" Eier lediglich noch genießbar sein (Art. 1) und nicht den Anforderungen für Eier der Klasse A und B entsprechen (Art. 9). Derartige, der Handelsklasse C zuzuordnende Eier dürfen deshalb nur an Aufbereitungsstellen zur Herstellung pasteurisierter Eiprodukte (bebrütete Eier) oder an die Industrie abgegeben werden (Art. 9). § 2 (1) 3 der Eiprodukte-VO (1975) bezieht sich ausschließlich auf die jeweils geltende Fassung der EWG-Vermarktungsnormen.

2.1.2 Wirtschaftliche Bedeutung

Während der vergangenen Jahrzehnte ist der Bedarf an Eiern und Eiprodukten in der Bundesrepublik Deutschland ständig angestiegen. Nach Angabe des Zentralverbandes der Deutschen Geflügelwirtschaft e.V. (1968) steigerte sich der Eiverbrauch von rund 9 Milliarden Stück im Jahre 1956 auf ca. 17.5 Milliarden Stück im Jahre 1981/82 (BMELF 1982), von denen die meisten in ihrer ursprünglichen Form in privaten Haushalten, Großküchen, Bäckereien und Industrie Verwendung fanden. Ein zunehmender Teil wird jedoch - wie mehrere Autoren (BERGQUIST 1979; CUMMINGS 1972; ENTHOVEN 1980; FORSYTHE 1970 b; KIEFER 1976; LITTMANN 1981; RAHMAN 1968; STEINER 1982) übereinstimmend für verschiedene Staaten berichten - industriell zu Eiprodukten weiterverarbeitet. Den Trend zum erhöhten Eiprodukteverbrauch verdeutlicht auch ein Vergleich der Import-

zahlen von 1950 und 1980 für die Bundesrepublik Deutschland. Konnte im Jahre 1950 der Bedarf noch im eigenen Land gedeckt werden, so mußten 1980 bereits fast 22.000 t in die Bundesrepublik eingeführt werden, wobei Vollei mit 15.000 t gegenüber 3800 t Eigelb und 3000 t Eiklar (ENTHOVEN 1980; ZMP 1981) die häufigste Handelsform darstellte.

Insbesondere wegen des schubweisen Eieranfalls in der Geflügelproduktion und der aufwendigeren Transport- und Lagerungsbedingungen für Schaleneier (GIANNINOTO und PERILLO 1977; NIELSEN 1981; STEINER 1982) werden Eier in der Lebensmittelindustrie überwiegend in Form von Eiprodukten eingesetzt.

2.1.3 Verwendung

Über die funktionellen Eigenschaften der verschiedenen Eiprodukte und ihre Verwendung in der Ernährungswirtschaft sind in den letzten Jahren zahlreiche Publikationen (DELMER 1981; FORSYTHE 1970 a, b; FORSYTHE und BERGQUIST 1973; JANSSEN 1971; NIELSEN 1981; RAUCH 1968; SAVI 1973; STADE und DUNG 1980; ZACHARIAS et al. 1977) erschienen. Sie dienten als Grundlage für Tabelle 1, aus der hervorgeht, daß Eiprodukte aufgrund ihrer vielseitigen Einsatzmöglichkeit bei der industriellen Fertigung verschiedenster Produkte einen wichtigen Rohstoff bilden.

Nach SAVI (1973) sowie STADE und DUNG (1980) wird bei der Herstellung von Nudeln und anderen Teigwaren heute meistens Vollei, also Eigelb und Eiklar, in getrockneter oder gefrorener Form verwendet. Setzt der Hersteller seinen Produkten jedoch Frischvollei bzw. Frischeigelb zu, so kann er sie als "Frischei"-Teigwaren deklarieren, wobei das Ausgangsmaterial allerdings ausschließlich von Schaleneiern der Güteklasse A stammen muß (STADE und DUNG 1980). Der positive Einfluß von Vollei auf die Teigbeschaffenheit und die Kocheigenschaften beruht vor allem auf der ausgeprägten Bindekraft dieses

Tabelle 1: Zusammenstellung der verschiedenen Eiprodukte und deren Verwendung in der Ernährungsindustrie (nach STADE und DUNG 1980)

Eiprodukte	Verwendung
Vollei, flüssig oder gefroren	Backwarenindustrie Mayonaisenindustrie
Vollei, getrocknet	Backwarenindustrie Nährmittelindustrie Teigwarenindustrie
Eigelb, flüssig mit 6 - 8% Salz und 1% Benzoesäure oder 10 - 12% Salz ohne Konservierungsmittel	Mayonaisenindustrie Feinkostindustrie Margarineindustrie
Eigelb, gefroren	Teigwarenindustrie Nährmittelindustrie Likörfabriken
Eigelb, getrocknet	Teigwarenindustrie Nährmittelindustrie
Albumine (Eiweiß), flüssig und gefroren	Fleisch- und Wurstwarenindustrie
Albumine, getrocknet	Süßwarenindustrie (Negerküsse, Baiser) Backhilfsmittel

Lebensmittels (ZACHARIAS et al. 1977), an deren Zustandekommen die koagulierfähigen Proteine des Eiklaranteils maßgeblich beteiligt sind. Zusammen mit den Farbstoffen aus der Getreidekomponente bewirken die Carotinoide des Dotteranteils zugleich die Gelbfärbung der Teigwaren, so daß sich insgesamt

eine Verbesserung von Farbe, Aroma, Geschmack und Nährwert der Teigwaren einstellt (STADE und DUNG 1980).

Bei der gewerbsmäßigen Herstellung von Backwaren werden Eiprodukte besonders wegen ihrer funktionellen Eigenschaften eingesetzt (DELMER 1981; FORSYTHE 1970 a, b; FORSYTHE und BERGQUIST 1973; RAUCH 1968). Nach STADE und DUNG (1980) sowie ZACHARIAS et al. (1977) liegt die backtechnologische Bedeutung des Eiklars im Schaumbildungs- und Gashaltevermögen, in der Koagulationsfähigkeit und in der Möglichkeit, Wasser und Rohstoffe zu binden. Speziell wegen der guten Schaumbildung findet Eiklar auch als Triebmittel Verwendung. Dieser Effekt während des Backens basiert auf einem Vorgang, bei dem im Eischnee eingeschlossene Luft sich ausdehnt ("Aufgehen" des Teiges) und durch die Verfestigung der Eiweißhülle nicht nach außen entweichen kann. Insgesamt wirkt Eiklar auf das Gebäck lockernd, leicht feuchtend und eher geschmacksabflachend, während Eigelb neben einer günstigen Wirkung des Lezithinanteils auf das Emulgiervermögen eine stabilere Fettverteilung, Farbverbesserung und Geschmacksabrundung bedingt.

Als typischer Bedarfsträger für Eigelb ist die Feinkostindustrie (JANSSEN 1971; SAVI 1973; STADE und DUNG 1980; ZACHARIAS et al. 1977) anzuführen, da sie insbesondere Mayonaisen neben Speiseöl pflanzlicher Herkunft auch Hühnereigelb zusetzt. Nach den Richtlinien des Bundesverbandes der Deutschen Feinkostindustrie e.V. (1979) beträgt der Eigelbgehalt von Mayonaise dabei - bezogen auf einen Fettgehalt von mindestens 80% - üblicherweise 7.5%. Nicht nur wegen der Farbgebung, sondern auch wegen seiner emulgierenden Wirkung, die für eine Verteilung von Speiseöl ("Ölphase") in einer zusammenhängenden Wasserphase sorgt, wird hier das Eigelb geschätzt. Dabei stabilisiert das im Eigelb enthaltende Lezithin die Öl/Wasser-Emulsion, indem es die Grenzflächenspannung zwischen diesen zwei miteinander nicht mischbaren Phasen herabsetzt.

Auch bei der Herstellung von Eierlikör (JANSSEN 1971; STADE und DUNG 1980; ZACHARIAS et al. 1977), der hauptsächlich aus Alkohol, Zucker und Hühnereigelb besteht, wird die Emulgatorfunktion des Eigelbs genutzt. Zu beachten ist allerdings, daß zur Herstellung verwendetes Eigelb von frischen Schaleneiern der Güteklasse A stammen muß. Vor der Verarbeitung kann es jedoch gefroren, pasteurisiert oder mit Alkohol konserviert werden. Das fertige Produkt enthält mindestens 240 g Rohprotein/l und wird durch die Konservierung des Eigelbs mit Alkohol auf eine Alkoholkonzentration von 17 - 20% gebracht.

Die Verwendung von Eiern und Eiprodukten in der Fleisch- und Wurstwarenindustrie (RAUCH 1968, STADE und DUNG 1980; ZACHARIAS et al. 1977) ist gemäß den Bestimmungen von Anlage 2 und 3 zu § 4 (2) bzw. § 5 (1) der Fleisch-Verordnung i.d.g.F. unter bestimmten Voraussetzungen und in begrenztem Umfang erlaubt. Außerdem wird die Verwendung von Eiklar als Klärmittel (ZACHARIAS et al. 1977) bei der industriellen Fertigung von Aspik und Fleischbrühe genutzt. Diese Wirkung des Eiklars beruht auf einem Gerinnungsprozeß in kochender Flüssigkeit unter Einschluß anderer Trübstoffe.

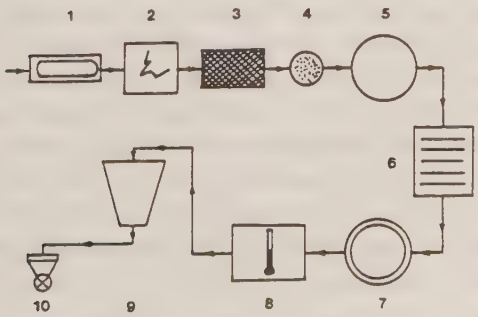
2.2 Technologie der Eiprodukte

Während es früher schon üblich war, Trockeneiprodukte von Zulieferfirmen zu beziehen (GRZIMEK und PUSCH 1969; KAESS 1960; LERCHE et al. 1957; RAUCH 1968; WUNDRAM und SCHÖNBERG 1962), wurde Flüssigei zur Herstellung von Lebensmitteln mit dem Beinamen "Frisch-Ei" meist im eigenen Betrieb durch Aufschlagen von Schaleneiern gewonnen (LITTMANN 1981). Heute besorgen auch diesen Aufarbeitungsschritt speziell auf solche Erzeugnisse ausgerichtete Unternehmen. Nach Mitteilung von ENTHOVEN (1980) und LITTMANN (1981) wird der Trend angesichts des hohen technischen Aufwands und des damit verbundenen

erheblichen Kapitaleinsatzes im Rahmen zunehmender Rationalisierungstendenzen in der Lebensmittelproduktion verständlich. Auch aus seuchenhygienischer Sicht läßt sich die Verlagerung der Eiprodukteherstellung in Spezialbetriebe befürworten, weil diese Institutionen über die nötigen einschlägigen Erfahrungen für die Behandlung und Gewinnung eines Zwischenprodukts, das besonderen hygienischen Anforderungen unterliegt, verfügen (LITTMANN 1981).

Die Produktion von Flüssigei sowie Trockenei können gemeinsam besprochen werden, da sich die Arbeitsgänge weitgehend gleichen. Bei Eipulver sind lediglich einige zusätzliche Schritte notwendig. Zur besseren Übersicht zeigt Abbildung 1 für getrocknete Eiprodukte die einzelnen Herstellungsstufen vom Durchleuchten der Eier bis zum Abfüllen des fertigen Eipulvers (FORSYTHE 1968; GRZIMEK und PUSCH 1969; KIEFER 1976;

Abbildung 1: Schematische Darstellung der Arbeitsgänge bei der Trockeneiherstellung
1. Durchleuchten - 2. Brechen - 3. Sieben - 4. Homogenisieren - 5. Fermentieren - 6. Kühlen - 7. Sammeln - 8. Pasteurisieren - 9. Trocknen - 10. Abfüllen
(nach RAUCH 1968)



MARIN 1979; NIELSEN 1981; RAUCH 1968) in Form einer schematischen Darstellung.

Ergänzend sei angemerkt, daß neben Schaleneiern auch bereits an einem anderen Ort (z.B. Packstelle) aufgeschlagene und in flüssiger oder gefrorener Form an den Weiterverarbeiter transportierte Eier (LITTMANN 1981) in den Produktionsablauf eingeschleust werden.

Eiprodukte werden unter kommerziellen Bedingungen durch maschinelles Trennen von Eischale und Eiinhalt hergestellt. Die dazu benötigte Aufschlagvorrichtung (FORSYTHE 1968; KIEFER 1976; RAHMAN 1968) muß jedoch überwacht werden, um qualitativ schlechte und untaugliche Eier durch Kontrollpersonen zu entfernen. Als weitere Maßnahmen zur Sicherung einer guten Rohstoffqualität empfehlen sich eine Durchleuchtungsprüfung zu Beginn der Verarbeitung (GRZIMEK und PUSCH 1969; RAUCH 1968), das Waschen und Desinfizieren der Eioberfläche vor dem maschinellen Aufschlagen (RAHMAN 1968), die regelmäßige Reinigung und Desinfektion der Aufschlagmaschine selbst (KIEFER 1976; RAHMAN 1968) und die Verwendung qualitativ hochwertigen Ausgangsmaterials (Schaleneier der Güteklasse A). Unmittelbar nach dem Aufschlagen wird der Eiinhalt nochmals überprüft und dann das Eiweiß vom Eigelb getrennt, indem jedes Erzeugnis für sich oder im Gemisch (Vollei) durch mechanisches Absperren der weiteren Verarbeitung zugeführt wird (RAHMAN 1968). Eine vollkommene Trennung zwischen Eiklar und Dotter gelingt allerdings nicht (FORSYTHE 1968; KIEFER 1976), so daß Eiprodukte sich oft erheblich von der natürlichen Zusammensetzung unterscheiden und damit die erwünschten funktionellen Eigenschaften beeinträchtigt sein können (CHANG 1973). Neben technologisch begründeten Eigelbresten im Eiklar werden dafür auch durch hohe Lagerungstemperaturen bedingte Vermischungsvorgänge im Schalenei selbst verantwortlich gemacht (MEEHAN et al. 1962; SMITH 1959).

Im nächsten Verarbeitungsschritt wird das Flüssigei gesiebt, um Verunreinigungen jeder Art zurückzuhalten. Nach KIEFER (1976) lassen sich Eischalenreste, Chalazae, Blutgerinnsel und sonstige Fremdkörper aber auch durch Zentrifugieren entfernen, wobei die Trennkräfte 6000 g allerdings nicht überschreiten sollten, da sonst Eigelbbestandteile auszentrifugiert werden könnten.

Zur Gewinnung einer einheitlichen Eimasse folgt das Homogenisieren in Vorratstanks mit Hilfe von Rühr- oder Pumpsystemen (FORSYTHE 1968). Speziell für die Produktion von Eipulver wird als nächster Arbeitsgang eine Fermentation zwischengeschaltet (AYRES 1958; GIANNINOTO und PERILLO 1977; GRZIMEK und PUSCH 1969; KAESS 1960; KIEFER 1976; RAUCH 1968). Sie dient dem Ziel, ohne Zusatz von Chemikalien die Glukose enzymatisch mit Hilfe von Bakterien, Hefen oder Glukoseoxidase abzubauen. Zur bakteriellen Fermentation wird vor dem Zusatz von Aerobacter aerogenes und anderen glukosespaltenden Bakterien (AYRES 1958) der pH-Wert von Eiklar mit Milch- oder Zitronensäure auf 7.0 bis 7.5 gesenkt und das Produkt für 12 bis 14 Stunden bei ca. 30°C fermentiert (FORSYTHE 1968; KIEFER 1976). Da Vollei und Eigelb nach Anwendung dieses Verfahrens Geruchs- und Geschmacksveränderungen zeigen (FORSYTHE 1968), wird für beide sowie auch für Eiklar der Zuckerabbau mittels Glukoseoxidase empfohlen (BALDWIN et al. 1953; CARLIN und AYRES 1953; SCOTT 1953). Durch die fermentative Zuckeraufspaltung werden Geschmacksverschlechterung und Braunfärbung, welche aus einer Verbindung zwischen den Aldehydgruppen der freien Glukosen mit den Aminogruppen der Eiproteine (Maillard-Reaktion) resultieren, während der Lagerung weitestgehend vermieden oder zumindest erheblich verlangsamt (KAESS 1960; KIEFER 1976; RAUCH 1968).

Das gesiebte, homogenisierte und ggf. fermentierte Flüssigei wird anschließend gemäß § 3 (2) 2 der Eiprodukte-VO (1975) auf höchstens 6°C abgekühlt und in größeren Behältern gesammelt. Hier erfolgt dann die Zumischung von Stoffen, die entweder die

Eiklarproteine bei der Pasteurisierung stabilisieren oder aber bereits Bestandteile des Endprodukts darstellen (KIEFER 1976; LITTMANN 1981).

Die sich anschließende Pasteurisation erfolgt kontinuierlich mit einem Plattenerhitzer (GORDON 1971, 1972; KIEFER 1976). Der Apparat arbeitet nach folgendem Prinzip (FORSYTHE 1968; VANCURA 1974 b): Das Produkt wird in einem geschlossenen Zyklus vorgewärmt, auf die Pasteurisationstemperatur mit heißem Wasser erhitzt, für die vorgeschriebene Zeit bei konstanter Temperatur gehalten und zuletzt mit Eiswasser wieder abgekühlt. Moderne Anlagen bedienen sich dabei zur Energieeinsparung des Prinzips der Wärmerückgewinnung, so daß einerseits die unpasteurisierte Ware die Wärme vom erhitzten Produkt übernimmt und andererseits das Produkt nach dem Erhitzen und Heißhalten vom kalten Rohstoff vorgekühlt wird. Nach BERGQUIST (1979), FORSYTHE (1968), KIEFER (1976), THAPON et al. (1979), VANCURA (1974 b) sowie YAMANAKA und NONAMI (1979 a, b) wird mit der Pasteurisation eine Verlängerung der Haltbarkeit und insbesondere eine Inaktivierung bzw. Reduktion von Salmonellen und anderen Keimgruppen bezweckt. Der hierzu notwendige Erhitzungsprozeß muß nach Mitteilung von KIEFER (1976) ausreichen, um Salmonellenstämme mit dem zweifachen D-Wert (Dezimal-Reduktionszeit) des Teststammes Salmonella typhimurium TM-1 in allen vorkommenden Eiprodukten abzutöten und die Zahl der anderen vegetativen Keime zu vermindern. Da pH-Wert und Zusätze wie Salz und Zucker die Widerstandskraft von Salmonellen und anderen Bakterien merklich beeinflussen (KIEFER 1976; VANCURA 1974 b), benötigen die einzelnen Eiprodukte unterschiedliche Wärmemengen zur Pasteurisation. Nach VANCURA (1974 b) ist die Hitzeresistenz der Salmonellen, deren Wachstumsbereich zwischen pH 9.0 - 4.5 liegt, bei pH 5 bis 6 am größten. Dargestellt am Beispiel von flüssigem Eiklar ergibt sich hieraus für die praktische Anwendung, daß die Erhitzung für ein Produkt mit pH 9 um 3°C niedriger gewählt werden kann (bei gleicher Heißhaltezeit) als mit pH 7.

Enthalten Eiprodukte außerdem Zusätze wie Kochsalz oder Zucker, so erhöht sich die Hitzeresistenz der Salmonellen deutlich (COTTERILL und GLAUERT 1969). Ein geringer Salzgehalt in der Größenordnung von 4% verstärkt gleichfalls die Thermoresistenz der Mikroorganismen und auch der Sporen. Aus diesem Grund muß entweder die Erhitzungstemperatur höher oder die Heißhaltezeit länger angesetzt werden (VANCURA 1974 b). Erst bei einer Konzentration von 10% NaCl werden die Fäulnisbakterien in ihrer Entwicklung gehemmt.

Die in Eiprodukten vorhandenen wärmeempfindlichen Proteinfraktionen bieten insoweit Probleme für die Pasteurisierung, als sowohl die Erhitzungstemperatur als auch die Heißhaltezeit nur in engen Grenzen modifiziert werden kann. So koaguliert Eiklar aufgrund seines relativ hohen Anteils an Albuminen (GILBERT 1971 b) schon bei Temperaturen zwischen 50°C und 60°C (KIEFER 1976). Vollei und Eigelb können andererseits ohne Gefahr der Denaturierung noch bei 66°C pasteurisiert werden (VANCURA 1974 b). KOHL (1971) entwickelte deshalb speziell für Eiweiß ein Verfahren, das eine Hitzeschädigung dieses Produkts zu vermeiden hilft. Eiklar wird danach vor der Pasteurisation mit 0.5 bis 0.75% Natriumpolyphosphat versetzt, der pH-Wert bei 9.0 bis 9.5 belassen und die Pasteurisation für 3.5 Min. zwischen 51.8°C und 55°C (≙ 126°F bis 131°F) durchgeführt. Neben der Hitzestabilisation werden durch den Zusatz der Phosphatverbindung die funktionell nachteilige Wirkung von Eigelbbeimischungen aufgehoben und ferner die bakteriostatischen Eigenschaften verbessert (CHANG 1973). Für Höhe und Dauer der Pasteurisationstemperatur bei den einzelnen Eiprodukten gibt es noch keine international verbindliche Regelung (COTTERILL und GLAUERT 1969; FORSYTHE 1968; GORDON 1971; KIEFER 1976; VANCURA 1974 b). So werden z.B. in den Vereinigten Staaten folgende Pasteurisationstemperaturen vorgeschlagen (COTTERILL und GLAUERT 1969; U.S. DEPARTMENT OF AGRICULTURE 1967):

Heißhaltezeit:	3.50 Min.	3.75 Min.
Vollei	60.0°C	
Eigelb	61.1°C	
Eigelb mit Zucker		63.0°C
Eigelb mit Salz		73.0°C
Eiklar pH 7	60.0°C	
Eiklar pH 9	56.7°C	

In der Bundesrepublik Deutschland ist zwar keine bestimmte Erhitzungstemperatur vorgeschrieben, doch müssen die Bedingungen von § 5 der Eiprodukte-VO (1975) erfüllt werden. Danach gilt eine Vorbehandlung als ausreichend, wenn durch ein Verfahren Salmonella-Bakterien und andere Enterobakteriazeen in Eiprodukten abgetötet werden. Anlage 2 zu den §§ 5, 6 und 8 der Eiprodukte-VO (1975) enthält die entsprechenden Untersuchungstechniken und Stichprobenpläne. Um diese Bedingungen zu erfüllen, werden Vollei und Eigelb für 3 Min. auf 65°C bis 66°C erhitzt (SCHOLTYSSEK et al. 1981; VANCURA 1974 b), während Eiklar für ebenfalls 3 Min. bei mindestens 56°C pasteurisiert wird (VANCURA 1974 b).

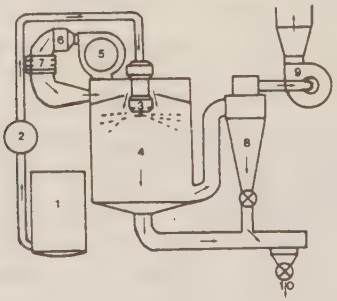
Nach der Pasteurisation wird das Flüssigei entweder zu Eipulver weiterverarbeitet oder bereits nach diesem Verarbeitungsschritt in flüssiger oder gefrorener Form zur weiteren Verwertung abgegeben. Unter den Eiprodukten gewinnt Flüssigei zunehmend an Bedeutung, da es den geringsten apparativen Aufwand erfordert (KIEFER 1976). Allerdings sind erhebliche Anforderungen an den Hygienestatus sowie pH-Wert zu stellen, und es muß ferner für ausreichende Kühlung des Produkts, schnelle Füllung, gute Isolierung der Transportbehälter sowie sofortige Weiterverarbeitung im Empfängerbetrieb gesorgt werden.

Gefrorene Produkte verlieren dagegen nach Meinung mehrerer Autoren (GIANNINOTO und PERILLO 1977; KAESS 1960; KIEFER 1976;

SAVI 1973) an Bedeutung. Sie verlangen eine geschlossene Kühlkette und teure Verpackung. Außerdem verändert sich während des langsamen Kühl- und Auftauvorgangs die physikalische Beschaffenheit des Materials, so daß neben der erhöhten Gefahr des mikrobiellen Verderbs (BULYCHEV et al. 1976; KIEFER 1976) auch die funktionellen Eigenschaften v.a. durch die Viskositätserhöhung beeinträchtigt werden (GIANNINOTO und PERILLO 1977; KIEFER 1976). Als weitere Nachteile führen diese beiden Autoren die schlechte Dosierbarkeit und den Geschmacksverlust von Gefrierei an.

Im Gegensatz zu gefrorenen Produkten steigt der Bedarf an Trockeneiprodukten ständig, da Eipulver - bei Gewährleistung einer guten Qualität - einfach und billig verpackt, transportiert und gelagert werden kann (FORSYTHE 1970 a, b; GIANNINOTO und PERILLO 1977; GRZIMEK und PUSCH 1969; HINTON 1968; KIEFER 1976; RAUCH 1968). Wegen des hohen Wassergehalts der Eier von rund 75% muß durch Sprühtrocknung (FORSYTHE 1968; GIANNINOTO und PERILLO 1977; GORDON 1972; KIEFER 1976; LERCHE et al. 1957; MARIN 1979; NIELSEN 1981; WUNDRAM und SCHÖNBERG 1962) das Flüssigei auf etwa ein Viertel des Ausgangsgewichts konzentriert werden (GRZIMEK und PUSCH 1969; RAUCH 1968). Nach KIEFER (1976) werden dazu Vollei und Eigelb in Sprühtürmen, Eiklar dagegen in Sprühkammern bei Lufteinlaßtemperaturen von 177°C und Produktauslaßtemperaturen von 49°C bis 65°C getrocknet. Aufbau und Arbeitsweise eines solchen Zerstäubungstrockners erläutert Abbildung 2 (nach GRZIMEK und PUSCH 1969; RAUCH 1968):

Abbildung 2: Zerstäubungstrockner zur Herstellung von Eipulver 1. Vorratsbehälter - 2. Flüssigkeitspumpe - 3. Zerstäuber - 4. Trockenkammer - 5. Luftgebläse - 6. Staubfilter - 7. Erhitzer - 8. Zyklon - 9. Soggebläse - 10. Abfüllvorrichtung (nach RAUCH 1968)



Das Flüssigei befindet sich in einem Vorratsbehälter (1) und wird durch eine Pumpe (2) in den Kopf einer Trockenkammer (4) befördert. Im Kopf der Trockenkammer befindet sich eine rotierende Zerstäuberscheibe (3) mit hohen Umdrehungszahlen, so daß auf die Zerstäuberscheibe einfallendes Flüssigei aufgrund der Zentrifugalkräfte mit hoher Geschwindigkeit als feinverteilte Phase in die Trockenkammer eingeschleudert wird. Gleichzeitig wird Luft als Trockenmittel von einem Gebläse (5) angesogen, über ein Staubfilter (6) gereinigt, in einem Erhitzer (7) auf die Arbeitstemperatur erwärmt und dann in den Trockenraum hineingeblasen. Wegen der feinen Zerstäubung der Flüssigkeitströpfchen verdampft das darin enthaltene Wasser sehr schnell. Die eigentliche Trockensubstanz sinkt als Eipulver auf den Boden des Trockenraums, von wo es mit Hilfe einer Räumvorrichtung abgenommen wird und über einen Transportkanal in die Abfüllvorrichtung (10) gelangt. Die durchziehende warme Luft wird durch ein Sauggebläse (9) nach außen befördert, nachdem mitgerissenes restliches Eipulver in Zyklonen (8) genannten Fliehkraftabscheidern vorher gesammelt

wird. Auch dieses Pulver gelangt auf die Transportvorrichtung und kann durch einen kalten Luftstrom abgekühlt werden.

Der Wassergehalt des fertigen Eipulvers schwankt zwischen 3% und 9% (SOUCI et al. 1979). Zum Verbrauch wird das Eipulver lediglich mit Wasser versetzt und dann ebenso wie Frischeier verarbeitet (RAUCH 1968), wobei 85 Frischeier rund 1 kg Trockenvollei entsprechen (GIANNINOTO und PERILLO 1977). Insgesamt ist die Qualität des Trockeneipulvers, zu dessen Beurteilung neben dem Nährwert, den sensorischen Merkmalen (Geschmack, Geruch, Farbe) und dem Keimgehalt auch die funktionellen Eigenschaften (Bindekraft bzw. Viskosität, Schaumbildungsvermögen, Backfähigkeit, Emulgierbarkeit) herangezogen werden (SCHOLTYSSEK et al. 1981), durchaus mit der von Flüssigei vergleichbar (GRZIMEK und PUSCH 1969; RAUCH 1968). Darüber hinaus läßt sich einwandfrei gewonnenes, nicht denaturiertes Eipulver, sofern es in verzinnten Dosen und unter Stickstoffatmosphäre bei 5°C gelagert wird (RAUCH 1968), ohne merkbare Qualitätseinbuße selbst über zwei Jahre lagern (HINTON 1968).

2.3 Hygieneparameter

2.3.1 Keimspektrum

Während Schaleneier aufgrund ihres Aufbaus und ihrer Zusammensetzung einen gewissen Schutz gegen mikrobiellen Verderb besitzen, ist in Eiprodukten durch das Fehlen der physikalischen und chemischen Abwehrfunktion der Eischale und des gleichfalls als Schutzhülle wirkenden Eiklars stets mit dem Vorkommen verschiedener Keimarten zu rechnen (KIEFER 1976; LITTMANN 1981; STEINER 1982). Obgleich die Kontamination der Flüssigeierzeugnisse überwiegend beim Aufschlagen der Eier durch Kontakt mit der äußeren Schalenwand und durch den Inhalt

bereits verdorbener Eier erfolgt (KRAFT et al. 1967), soll im folgenden zum Verständnis der eisspezifischen Verderbsassoziation und -sukzession über die Gesamtheit der Kontaminationsquellen und antibakteriellen Schutzmechanismen des Schaleneies berichtet werden.

2.3.1.1 Kontamination vor dem Legen

Aufgrund zahlreicher Untersuchungsergebnisse (BOARD 1966; FORSYTHE et al. 1967; FRITZSCHE und ALLAM 1965; GORDON und TUCKER 1965; HAINES 1939; HARRY 1963 a; HINSHAW und McNEIL 1940; HINSHAW und TAYLOR 1933; KOCH und RABINOWITSCH 1907; MATTHES und HANSCHKE 1977; MOHLER und WASHBURN 1909; RETTGER 1913; ROMANOFF und ROMANOFF 1963) kann vor allem bei kranken Legehennen eine kongenitale Infektion des Hühnereies bereits haemato- und lymphogen im Eierstock, im Eileiter oder in der Kloake erfolgen. HARRY (1963 a) bewies diese Feststellung, indem er Legehennen tötete und aus 43% der untersuchten Eiinhalte vornehmlich Laktobazillen und Mikrokokken isolierte. MILLER und CRAWFORD (1953) hielten deshalb auch eine initiale Kontamination des Eiinhaltes mit Mikrokokken für möglich. Nach FRITZSCHE und ALLAM (1965) sowie HARRY (1963 a) kann der Eileiter durch Mikrokokken, Streptokokken, Coliforme und die heute in der modernen Legehennenhaltung bedeutungslos gewordenen Mykobakterien von der Kloake aus infiziert werden. Andererseits zeigte HOROWITZ schon 1903, daß künstlich eingeführte Mikroorganismen im Eileiter bereits nach 48 bis 72 Stunden inaktiviert werden. Als Ursachen gelten eine durch die lymphoide Struktur der Schleimhaut begünstigte Phagozytose, ferner die Eileiterperistaltik mit dem ständigen Transport des Eiinhaltes zur Kloake hin, sowie letztlich eine gewisse Bakterizidie im Eileiter, die durch das im Ovidukt befindliche Eiweiß noch intensiviert wird.

Wegen dieser vielfältigen Abwehrmechanismen dürfte die Eileiterinfektion in ihrer Bedeutung hinter der ovariellen

Infektion über Blut- und Lymphgefäße zurückstehen. Dieser Modus konnte insbesondere für Mykobakterien (FRITZSCHE und ALLAM 1965; KOCH und RABINOWITSCH 1907; MOHLER und WASHBURN 1909), Staphylococcus aureus sowie Pasteurella haemolytica (MATTHES und HANSCHKE 1977) und Salmonellen (BOARD 1966; GORDON und TUCKER 1965; HINSHAW und McNEIL 1940; HINSHAW und TAYLOR 1933; RETTGER 1913) nachgewiesen werden.

Die Gefahr der haematogenen Dotterinfektion speziell durch Salmonella pullorum und Salmonella gallinarum (FORSYTHE et al. 1967) ist jedoch gering im Verhältnis zur fäkalen Kontamination in der Kloake oder nach dem Legen (KIEFER 1976). In gesunden Legehennenbeständen wird aber selbst in der Kloake nur ein kleiner Teil der Eier mit pathogenen bzw. apathogenen Keimen kontaminiert (STUART und McNALLY 1943). Infolgedessen sind Schale und Inhalt frisch gelegter Eier - wie zahlreiche Untersucher (BOARD 1977; BROOKS und TAYLOR 1955; BUSHNELL und MAURER 1914; GIBBONS et al. 1944; HADLEY und CALDWELL 1916; HAINES 1939; STUART und McNALLY 1943; TURNER und ARNOLD 1939; WINTER et al. 1946; ZAGAEVSKY und LUTIKOVA 1944) bestätigten - in über 90% der Fälle bakteriologisch steril, so daß die Kontamination erst im Verlauf der weiteren Behandlung und Lagerung erfolgt.

2.3.1.2 Kontamination nach dem Legen

Der Keimbefall nach dem Legen hängt überwiegend von der Sauberkeit der Legeställe und der Weiterbehandlung der Eier ab (HARRY 1963 b). Als hauptsächliche Infektionsquellen geben BOARD et al. (1964) sowie ROMANOFF und ROMANOFF (1963) Staub, Erde, Schmutz, Kotmaterial und gelegentlich mit Eiinhalt beschmutztes Eiverpackungsmaterial an. Voraussetzung für eine Keiminvasion durch die Poren der Eischale bildet das Vorhandensein von Wasser, das sowohl kapillar als auch durch Druckdifferenz in die Poren einzudringen vermag (BOARD 1977; KIEFER 1976). So tritt bei trockenen, sauberen Eiern selbst

nach langer Lagerung zu weniger als 1% Verderb auf (BROOKS und TAYLOR 1955; GILLESPIE und SCOTT 1950), während eine feuchte Eioberfläche bei über 18 - 28% der Eier Zersetzungserscheinungen bedingt. Außerdem fördert ein solches Milieu das Verpilzen mit Cladosporidium, Mucor, Penicillium, Sporotrichum und Thamnidium (KIEFER 1976; RAUCH 1968; SHARP und STEWART 1936). Das Hyphenwachstum der Myceten in Richtung auf die Poren bahnt darüber hinaus den Bakterien einen Weg ins Eiinnere (WESTON und HALNAN 1927).

Obwohl Umwelteinflüsse wie Temperatur (BOARD und AYRES 1965; KINNER und MOATS 1981), Lagerungsdauer (GESCHE und SCHULER 1979) und Weiterbehandlung (MOATS 1980) von Land zu Land differieren und die Flora der Eischale merklich beeinflussen (BAUR 1976; BHARGAVA et al. 1975; LOPEZ DE HERRERA und MANRIQUE 1977), stimmen die in verschiedenen Ländern erhobenen bakteriologischen Befunde für verdorbene Eier aufgrund eispezifischer Selektionsmechanismen (BOARD 1977) weitgehend überein. So herrscht auf der Eischale noch eine gemischte bzw. grampositive Flora in der Größenordnung von 10^5 Keimen/Ei vor, die von Staub, Schmutz oder Fäkalien stammt (BOARD 1964, 1977; HAINES 1938; SEVIOUR und BOARD 1972), während im Inneren verdorbener Eier zunehmend gramnegative Keime gefunden werden. Wie aus Tabelle 2 ersichtlich, gehören die hauptsächlich für das Verderben von Eiern verantwortlichen Mikroorganismen zur Gattung Alcaligenes, Pseudomonas, Proteus, Escherichia und Aeromonas (BOARD 1977; HARRY 1957; REID et al. 1961). Die Dominanz der gramnegativen Keime begründet BOARD (1977) mit ihren geringen Nährstoffansprüchen und der Fähigkeit, auch bei niedrigen Temperaturen zu wachsen. Hierdurch wären sie bestens gerüstet, dem antibakteriellen Schutzmechanismus des Schaleneies zu widerstehen.

In praxi geschieht die Infektion des Eies meist während des kurzen Zeitraumes nach dem Legen, indem Dotter und Weißei infolge der plötzlichen Temperatursenkung erkalten und ihr Volumen vermindern. Dadurch entsteht im Eiinneren ein Unter-

Tabelle 2: Zusammenstellung der verschiedenen in und auf Eiern vorkommenden Bakterienarten
(nach BOARD 1977)

Gattung	Häufigkeit des Vorkommens	
	Auf der Schale	In verdorbenen Eiern
Micrococcus	+++	+
Achromobacter	++	+
Aerobacter	++	-
Alcaligenes	++	+++
Arthrobacter	++	+
Bacillus	++	+
Cytophaga	++	+
Escherichia	++	+++
Flavobacterium	++	+
Pseudomonas	++	+++
Staphylococcus	++	-
Aeromonas	+	++
Proteus	+	+++
Sarcina	+	-
Serratia	+	-
Streptococcus	+	+

\+ ungewöhnlich
++ selten
+++ gewöhnlich

druck, der nach Zerreißen der Cuticula Wasser und Mikroorganismen in die Poren zieht (KIEFER 1976; McLAURY und MORAN 1959; MORAN und HAINES 1938; SHARP 1937).

Außer der passiven Kontamination besteht für verschiedene bewegliche Keimgruppen noch die Möglichkeit, aktiv in das Ei einzudringen (LANGE 1907; POPPE 1910). Zu den häufig aus infizierten Eiern isolierten Arten gehören in erster Linie mobile Bakterien wie Pseudomonas fluorescens und Alcaligenes bookeri var. (a) neben weiteren Vertretern dieser zwei Spezies sowie Proteus sp., Flavobacterium invisible und Paracolobacterium intermedium var. (a) (FLORIAN und TRUSSEL 1957). Des weiteren können solche Keime auch als Vehikel für unbewegliche Mikroorganismen fungieren, wie HEINRICH (1921) am Beispiel von Staphylokokken zeigte. Diese gelangten nur dann durch die Schale ins Eiinnere, wenn die Eier in eine mit beweglichen Bazillen angereicherte Lösung gelegt wurden. Ohne die Gegenwart von Bacillus pyocyaneus konnten die Mikrokokken erst nach einer Einwirkungszeit von 45 Tagen im Eiinhalt nachgewiesen werden.

2.3.1.3 Antibakterielle Schutzmechanismen des Schaleneies

Zum Schutz des Eiinhaltes vor bakterieller oder viraler Invasion besitzt das Schalenei sowohl physikalische als auch chemische Abwehrmechanismen.

2.3.1.3.1 Physikalische Schutzeinrichtungen

Einen mechanischen Schutz bieten die Cuticula (Oberhäutchen), die Eischale selbst, die Schalenhaut, welche sich ihrerseits in die äußere Schalenmembran und die innere Eimembran untergliedert, und letztlich das Eiklar.

Die sehr dünne (10 µm), durchsichtige und aus Muzinzellen (MORAN und HALE 1936; RAUCH 1968) bestehende Cuticula behindert das Eindringen von Keimen in die Schale durch Verschluß der Poren (FROMM 1963) für mindestens 96 Stunden nach dem

Legen (VADEHRA et al. 1970). Allerdings darf das Oberhäutchen vorher nicht durch Abreiben und Waschen der Schale (BROWN et al. 1966 a; FROMM 1963) sowie Behandlung mit Chemikalien wie E D T A oder Formaldehyd (BAKER und BALCH 1962; VADEHRA et al. 1970) zerstört werden. Ebenso schädigend wirken sich eine lange Lagerungsdauer und hohe Umgebungstemperaturen aus, indem die Austrocknung der Cuticula beschleunigt wird und sie dann unter der Spannung zerreißt (FROMM 1963; NORTH 1978; SCHMIDT 1961). Erst kürzlich isolierten BOARD et al. (1979) zwei Pseudomonasspezies mit der Fähigkeit, das Oberhäutchen zu verdauen. Sie sprechen deshalb derartigen Keimen eine synergistische Rolle bei der Besiedlung der Eischale mit Hefen zu, da diese allein nicht auf muzinhaltigem Substrat wachsen können.

Die 0.2 - 0.4 mm dicke, aufgrund der anorganischen (98% Calcit) Mamillär- und Palisadenschicht stabile und mit rund 10.000 Porenkanälen durchsetzte Eischale (RAUCH 1968) erfüllt eine gewisse natürliche Abwehrfunktion gegen bakterielle Penetration. So fanden zwar GARIBALDI und STOKES (1958) sowie HAINES und MORAN (1940) unter experimentellen Bedingungen, daß Mikroorganismen wie Escherichia coli, Pseudomonas sp., Serratia marcescens und Salmonella paratyphi nur dann durch die 6 - 13 µm großen Poren der Außenschale filtriert werden können, wenn die Schalenhaut zuvor entfernt wurde. In Verbindung mit der Außen- und Innenmembran erwies sich die Schale dagegen als unüberwindliche mechanische Barriere für alle in wässriger Suspension befindlichen Bakterien. Ein vollständiger Schutz ist aber nicht gewährleistet, wie MORAN und HAINES (1938) sowie SHARP (1937) nachwiesen. Nach ihren Untersuchungen sind die Poren der Eischalen für Mikroorganismen prinzipiell permeabel. Eier mit höherer Porosität und mißgebildeten Poren (NORTH 1978) ermöglichen dabei das Eindringen von Keimen eher als solche mit geringer Porosität (HAINES 1939; KRAFT et al. 1958).

Beim experimentellen Eintauchen des intakten Eies in flüssige Bakteriensuspensionen konnten als weitere die Penetration der Schale beeinflussende Faktoren die Schalendicke (OREL 1959; SAUTER und PETERSEN 1974), die Keimkonzentration der Suspension (BRANT und STARR 1962; BROWN et al. 1966 b; HARTUNG und STADELMAN 1963), die Zeit des Eintauchens in die bakterienhaltige Lösung (BRANT und STARR 1962; HARTUNG und STADELMAN 1963) und der Behandlungszustand der Schale (WILSON 1945) ermittelt werden.

Der flüssige Eiinhalt wird durch die unter der Eischale liegende Schalenhaut eingehüllt. Sie besteht aus zwei Lagen, einer inneren Eimembran und einer etwa dreimal so dicken äußeren Schalenmembran (STEWART 1935). Wie die zwischen 60 µm und 114 µm schwankenden Angaben über ihre Gesamtdicke (BALCH und TYLER 1964; HAYS und SUMBARDO 1927; MORAN und HALE 1936; ROMANKEWITSCH 1932; WOLKEN 1951) erkennen lassen, variiert dieses Merkmal nicht nur von Ei zu Ei (MAYES und TAKEBALLI 1983), sondern auch innerhalb des Eies, indem sie sich vom spitzen Pol zum stumpfen Ende hin verstärkt (ROMANOFF und ROMANOFF 1963; STEWART 1935). Nach MASSHOFF und STOLPMANN (1961) setzen sich die netzartig angeordneten Strukturelemente der Schalenhaut aus Keratinfasern mit einem Filamentdurchmesser von 30 - 40 Å zusammen, die ihrerseits von einer mukopolysaccharidhaltigen Hüllsubstanz umgeben sind. Aufgrund ihrer geringen Maschenweite bildet die Eimembran einen weit effektiveren Filter als die Eischale (FLORIAN und TRUSSEL 1957; GARIBALDI und STOKES 1958; HAINES und MORAN 1940; LIFSHITZ et al. 1964; WALDEN et al. 1956).

Allerdings lassen Untersuchungen von ZAGAEVSKY und LUTIKOVA (1944) eine geringe Widerstandsfähigkeit der Schalenmembranen gegenüber Pseudomonas aeruginosa, Serratia marcescens und Sarcina flava erkennen, sofern diese Organismen direkt auf die von der Schale befreite Membran inokuliert werden. Dabei bestimmen offensichtlich Temperatur, atmosphärische Einflüsse und Präsenz des für die Vermehrung der Bakterien notwendigen

Eisens die Entwicklung der Flora (BOARD 1977). So zeigen psychrotrophe Mikroorganismen wie Pseudomonas fluorescens auf membranhaltigem Substrat noch bei einer Temperatur von 0°C reges Wachstum, während Serratia marcescens sich bei 10°C nicht mehr vermehrt, und bei 37°C sogar abstirbt (BOARD und AYRES 1965). Weiterhin erweisen sich die obligat aeroben Pseudomonaden als besonders empfindlich gegen eine CO_2-Begasung (BOARD 1977). Andererseits bleibt nach den Mitteilungen von BOARD (1964, 1977), BOARD und HALLS (1973) sowie KIEFER (1976) die Invasionsabwehr der Membran gering, wenn Eisen durch den an die Schalenmembran angelagerten Dotter abgegeben wird oder die Bindungskapazität des Albumins zum Beispiel durch eisenhaltiges Waschwasser abgesättigt wird.

Je nach Bakterienart dauert die Penetration durch die Schalenmembran 1 bis 4 Tage (FLORIAN und TRUSSEL 1957; GARIBALDI und STOKES 1958). Die Hypothese, daß ein solcher Vorgang auf enzymatischer Proteolyse basiert (BOARD 1965, 1977; BROWN et al. 1965; GARIBALDI und STOKES 1958; HARTUNG und STADELMAN 1963), konnte aufgrund experimenteller Probleme (WEDRAL et al. 1971) noch nicht abgesichert werden.

Im Gegensatz zum Dotter, der alle für das Keimwachstum notwendigen Nähr- und Mineralstoffe enthält, erfüllt Eiklar schon wegen seiner physiologischen Beschaffenheit protektive Funktionen. So wird der Dotter durch die Chalazae und die Viskosität der Eiklarschichten zentriert und dadurch dessen Anlagerung an die Eischale verhindert (BOARD 1977; KIEFER 1976). Außerdem wirken sich sowohl die physikalische Struktur der Eiklarproteine als auch der Mangel an verfügbarem Wasser und Nährstoffen auf das Bakterienwachstum hemmend aus (YADAV und VADEHRA 1977).

2.3.1.3.2 Chemische Abwehrmaßnahmen

Die Abwehrfunktionen gegen bakterielle Besiedlung des Eies basieren nicht nur auf physikalischen Mechanismen, sondern auch chemische Faktoren sind daran beteiligt. So sollen bereits die Schalenmembranen auch antibakteriell wirkende Substanzen enthalten (BROOKS und TAYLOR 1955). Nach KOROTKOVA (1957) handelt es sich um Enzyme, die lediglich lysozymempfindliche Mikroorganismen inaktivieren. Wie STUART und McNALLY (1943) nachweisen konnten, wirkt in physiologische NaCl-Lösung eingelegtes Membranmaterial innerhalb von vier Stunden auch auf 80% der zugesetzten Pseudomonas aeruginosa-Keime bakteriolytisch. Da beide Untersucher jedoch keine Kontrollröhrchen angelegt hatten, stellen GILLESPIE und SCOTT (1950) sowie STOKES und OSBORNE (1956) nicht nur dieses Ergebnis, sondern generell die antimikrobiotischen Eigenschaften der Eischale in Frage.

Unbestritten ist hingegen die Rolle des Eiklars. Auch wenn es eine gewisse physikalische Schutzfunktion aufweist, so kommt doch seinen chemischen Abwehreigenschaften weit größere Bedeutung zu (BOARD 1969; BRENDL und KLEIN 1976). Unter den die Keimentwicklung hemmenden Komponenten stehen der pH-Wert, das Lysozym und das Conalbumin eindeutig im Vordergrund. Bereits SHARP und WHITAKER (1927) sowie STARK und SHARP (1927) erkannten die pH-Abhängigkeit der antibakteriellen Wirkung des Albumins. So liegt der pH-Wert im Eiklar des frisch gelegten Eies mit pH 7.6 - 7.9 (MAYES und TAKEBALLI 1983; POWRIE 1973) nahe am Wachstumsoptimum der meisten Saprophyten. Im Verlauf einer mehrtägigen Lagerung bei Zimmertemperatur fällt die Wasserstoffionenkonzentration durch Verlust der Pufferwirkung von H_2CO_3 auf über pH 9 ab (ROMANOFF und ROMANOFF 1963). Aufgrund der alkalischen Reaktion werden die meisten Bakterien im Wachstum gehemmt (SHARP und WHITAKER 1927; STARK und SHARP 1927). Daß sich Pseudomonas fluorescens, Proteus vulgaris sowie Alcaligenes sp. im Gegensatz zu den anderen untersuchten Keimarten bereits in Eiklar, dessen pH auf 7.9 eingestellt

ist, nicht mehr vermehren, führte GARIBALDI (1960) auf die Aktivität weiterer keimhemmender Faktoren zurück.

Das Eiklarprotein Lysozym stellt eine wichtige Komponente des Abwehrmechanismus dar und macht 3.5% der Weißeitrockenmasse aus. Seine bakteriolytische Wirkung beruht auf einer Hydrolase, welche die aus Mukopeptiden aufgebauten Gerüstsubstanzen von Mikroorganismen angreift (BOARD 1969, 1977; GEOFFREY und BAILEY 1975; GILBERT 1971 a; KIEFER 1976). Wie die in-vitro-Versuche zeigten, wird dabei in Abhängigkeit von Struktur und Mukopeptidanteil der Bakterienwand insbesondere die (1-4)-Bindung zwischen N-Acetyl-Neuramin und N-Acetyl-Glukosamin hydrolysiert. Außerdem soll das basisch reagierende Lysozym in der Lage sein, in alkalischem Milieu als positiv geladenes Molekül negativ aufgeladene Bakterienzellen zu agglutinieren (NG und GARIBALDI 1975). Obwohl mehrere Autoren (HARA und MATSUSHIMA 1967; WASSERFALL und TEUBER 1979) im Modellversuch feststellten, daß einige ubiquitär vorkommende St. aureus-Stämme und besonders Sporenbildner wie Clostridium tyrobutyricum der Lysozymaktivität widerstehen, erklärt die starke Lysozymwirkung gerade auf grampositive Keime zumindest teilweise das Vorherrschen gramnegativer Bakterien in verdorbenen Eiern (KIEFER 1976; SALTON 1957). Allerdings sensibilisieren ein alkalischer pH-Wert des Eiklars sowie dessen Vermögen, bivalente Kationen wie Ca^{++} zu binden, auch gramnegative Mikroorganismen für die Wirkung der Lysozymmuramidase (KIEFER 1976).

Die bakteriostatischen Eigenschaften der übrigen Eiklarproteine beruhen entweder auf einer Enzymhemmung oder auf ihrer Fähigkeit, die für das Keimwachstum nötigen Stoffe zu binden. So bildet das Conalbumin (Ovotransferrin), dessen Anteil an der Weißeitrockenmasse rund 10% beträgt (ALDERTON et al. 1946), mit Eisen, Kupfer, Mangan und Zink Chelate (BOARD 1977; DONOVAN et al. 1976; KIEFER 1976). Ein alkalisches Milieu aktiviert diesen Vorgang deutlich (GARIBALDI 1960; SCHADE und CAROLINE 1944). Durch die Blockierung der Eisenkationen

(ALDERTON et al. 1946; FRAENKEL-CONRAT und FEENEY 1950; FEENEY und NAGY 1952) werden insbesondere Mikrokokken am Wachstum gehindert. Als weniger empfindlich erweisen sich Bacillus sp. sowie gramnegative Keime (FEENEY et al. 1952). Weil die Wachstumsrate der Mikroorganismen nach den Untersuchungsergebnissen von SCHADE (1963) sowie THEODORE und SCHADE (1965) von der Eisen- oder Conalbumin-Konzentration im Medium abhängt, ist es verständlich, daß nach einer Säuberung der Eier mit eisenhaltigem Wasser die meisten Proben aufgrund der Absättigung des Conalbumins mit Eisen eine hohe Verderbnisanfälligkeit besitzen (BRANT und STARR 1962; GARIBALDI 1960).

Avidin tritt elektrophoretisch nicht in Erscheinung, weil es in zu geringer Konzentration (0.05% der Weißeitrockenmasse) vorliegt (GILBERT 1971 a; RAUCH 1968). Seine hemmende Wirkung basiert auf der Blockierung des für die Keimvermehrung notwendigen Biotins (EAKIN et al. 1940; KIEFER 1976).

Der stickstoffhaltige Farbstoff Riboflavin ruft nicht nur die grünlichgelbe Farbe des Eiklars hervor (RAUCH 1968), sondern bindet ebenfalls Kationen durch Komplexbildung (BOARD 1977; KIEFER 1976). ALDERTON et al. (1946), FEENEY und NAGY (1952) sowie SCHADE und CAROLINE (1944) halten eine Interaktion mit Conalbumin für möglich. Zusammen mit der alkalischen Reaktion des Eiklars wirken die Chelatbildner zum Lysozymeffekt (BOARD 1977; KIEFER 1976).

Insgesamt vier Enzyminhibitoren konnten bislang im Eiklar nachgewiesen werden. Anhand der Differenzierungsmerkmale Substratspezifität und Beweglichkeit im elektrischen Feld lassen sich das Ovomucoid (11% der Weißeitrockenmasse), der Ovoinhibitor (0.1 - 1.5%), ein Papain- (0.1%) sowie Trypsin-Inhibitor unterscheiden (BOARD 1977; GILBERT 1971 a; RAUCH 1968). Sie hemmen die Proteasen Trypsin, Chymotrypsin und Papain und damit den mikrobiellen Stoffwechsel (KIEFER 1976).

2.3.1.4 Mikrobiologie der unpasteurisierten Eiprodukte

Eiprodukte sind weit größeren hygienischen Risiken als Schaleneier ausgesetzt. Außer durch den Kontakt mit der äußeren Schalenwand und den Inhalt bereits verdorbener Eier kann die Kontamination durch die Luft, unzureichende sanitäre Einrichtungen sowie das Personal des Aufschlagraumes erfolgen (HAINES 1939; KIEFER 1976; McFARLANE et al. 1945; PENNISTON und HEDRICK 1947; ROSSER 1942; SCHNEITER et al. 1943; SOLOWEY et al. 1946; WINTER und WRINKLE 1949; ZAGAEVSKY und LUTIKOVA 1944). Diese zahlreichen Infektionsmöglichkeiten erklären zumindest teilweise die Vielfalt der Bakterienarten (WRINKLE et al. 1950) als auch die hohen Keimgehalte bis über 10^6/g (JOHNS 1944; McFARLANE et al. 1947; REDFIELD 1920; WINTER und WRINKLE 1949) in Eiprodukten. Während die mikrobielle Flora des Eiklars sich vornehmlich aus Pseudomonas, Acinetobacter und Enterobakteriazeen zusammensetzt (BARNES und CORRY 1969), enthalten Eigelb- und Volleimasse als ideale Bakterien-nährböden außer den gramnegativen Stäbchen besonders häufig Keime aus der Familie der Bacillaceae, Micrococcaceae und Lactobacillaceae (KIEFER 1976; RAHMAN 1968; STEINER 1982; WRINKLE et al. 1950). Dabei scheint zwischen der Zahl der aeroben Bakterien und der Möglichkeit einer Salmonelleninfektion eine positive Korrelation zu bestehen (KRAFT et al. 1967). Im Rahmen einer ganzjährigen Untersuchung auf das Vorkommen von Salmonellen in frisch aufgeschlagenem Flüssigei stellten GARIBALDI et al. (1968) fest, daß nur 7% der im Frühjahr und Winter untersuchten Vollei- und Eiklarproben Salmonellen enthalten, im Sommer und Herbst hingegen dieser Keim zu 54% isoliert werden kann.

2.3.2 pH-Wert

In Kapitel 2.3.1.3.2 wurde lediglich die protektive Funktion der alkalischen Albuminreaktion hervorgehoben. Dieser Abschnitt beschäftigt sich als weiterem Aspekt mit der von der

Lagerungsdauer abhängigen pH-Wert-Änderung des Eiklars einerseits und des Volleies andererseits.

Der Frischegrad von Schaleneiern kann durch Ausmessen der Luftkammerhöhe (des Gewichtsverlustes), der Eiklarhöhe und des Dotterindex charakterisiert werden. Diese Möglichkeiten bestehen beim Flüssigvollei nicht. Hier wird das Alter hauptsächlich über den pH-Wert und über einen Anstieg des Trockensubstanzgehaltes erfaßt (SCHOLTYSSEK et al. 1981; RAUCH 1968). Nach MAYES und TAKEBALLI (1983) sowie POWRIE (1973) beträgt die Wasserstoffionenkonzentration in frisch gelegten Hühnereiern für das Weißei pH 7.6 - 7.9 und für den Dotter pH 6.0. Während der pH-Wert des Eigelbs, dessen Puffersystem auf Phosphaten basiert, im Verlauf der Lagerung verhältnismäßig langsam pH 6.8 erreicht, fällt die Wasserstoffionenkonzentration des Eiklars durch Verlust der Pufferwirkung von H_2CO_3 zunächst schnell, dann langsamer ab, bis sich nach 3 - 5 Tagen ($T = 20^oC$) ein Sättigungswert im Bereich pH 9.5 - 9.7 einstellt (FIELDS 1979; KIEFER 1976; ROMANOFF und ROMANOFF 1963; VANCURA 1974 b).

In mehrtägigen Lagerungsversuchen mit Flüssigeiklar konnten GHONIEM (1972) sowie SCHOLTYSSEK (1979) als wichtigste Varianzkomponente für den pH-Verlauf die Umgebungstemperatur ermitteln. Offenbar wird bei höheren Temperaturen wegen der beschleunigten CO_2-Abgabe der Sättigungswert schneller erreicht als bei niedrigeren Temperaturen (RAUCH 1968).

Etwas kompliziertere Verhältnisse bestehen beim Vollei. LITTMANN (1981) sowie PAUL und POTTER (1978) fanden bei Untersuchungen an unpasteurisiertem Flüssigvollei aus dem Handel zusätzlich eine Relation zwischen steigendem Keimgehalt und absinkendem pH-Wert, häufig in Verbindung mit organoleptischen Veränderungen. STEINER (1982) gibt als Erklärung an, daß die zwischen pH 7.4 und 8.4 schwankende Wasserstoffionenkonzentration des frisch hergestellten Produktes zunächst durch Verlust an Pufferkapazität alkalischer wird und sich

erst im Verlauf der weiteren Lagerung als Folge mikrobieller Stoffwechselprodukte in den sauren Bereich verschiebt. Dabei kann ein pH-Wert von 7.2 als Grenzwert für den Verderb von unpasteurisiertem Vollei angesehen werden. Unter pH 7.2 ist stets mit einem Keimgehalt von über 10^6 Keimen/g und Geruchsabweichungen zu rechnen.

2.3.3 Verunreinigungen tierischer Art

2.3.3.1 Zum Inhalt des Begriffes "Filth"

Soweit im deutschsprachigen Schrifttum Beiträge über das Vorkommen von Schmutz in Lebensmitteln zu finden sind, beziehen sich die Veröffentlichungen lediglich auf pflanzliche Rohwaren und tierische Produkte wie Milch. Im angloamerikanischen Sprachraum hingegen gibt es eine Fülle von Publikationen und Vereinbarungen einschlägiger Methodenkommissionen über die Durchführung der Bestimmung von Fremdmaterialien ("extraneous materials") oder Schmutz ("filth") in den verschiedensten Nahrungsmitteln. In den "Official Methods of Analysis" (HORWITZ 1980), wo allein 39 Seiten der Beschreibung solcher Methoden vorbehalten sind, fällt unter den Begriff "extraneous materials" jede fremde Substanz im Lebensmittel, die durch nicht einwandfreie Bedingungen oder Verfahren bei deren Herstellung, Lagerung oder Verteilung in das Lebensmittel gelangen. Somit werden in diese Definition zersetztes Material sowie verschiedenartige Bestandteile wie Sand, Erde, Glas, Rost, nicht aber Mikroorganismen eingeschlossen.

Innerhalb des Oberbegriffes "extraneous materials" wird die tierische Kontamination, wie sie von Nagetieren, Insekten und Vögeln ausgeht, in Abhängigkeit von der Extraktionsmethode als "heavy filth", "light filth" sowie "sieved filth" zu einer eigenen Kategorie zusammengefaßt. Beim "heavy filth" erfaßt man auf der Basis unterschiedlicher Dichten durch Sedimentation mit $CHCl_3$ sowie CCl_4 Insekten- und Nagetierkotkügelchen,

Sand sowie Erde. Die Bezeichnung "light filth" rührt von der amerikanischen Flotationsmethode her, bei der die oleophilen, spezifisch leichteren Schmutzpartikel wie Insektenfragmente, Nagetierhaare und Federteile durch Aufschwemmen in Öl/Wasser-Mischungen aus Lebensmitteln abgetrennt werden. Zur Ermittlung des "sieved filth" wird Schmutz durch Siebe bestimmter Maschenweite separiert.

2.3.3.2 Bedeutung des Filth-Testes

Unter dem Filth-Test ist eine Qualitäts- und Hygienekontrolle zu verstehen, die sich als Beurteilungsmerkmal auf den Nachweis von Haaren, Federn, Insekten und dergleichen in Nahrungsgütern, pflanzlichen Rohstoffen und Futtermitteln stützt. Durch Vorrats- und Hygieneschädlinge, insbesondere Nagetiere, Vögel, Insekten, Milben einschließlich ihrer natürlichen Feinde verursachte Verunreinigungen lassen ganz allgemein Rückschlüsse auf beanstandenswerte Rohware, unkontrollierte Lagerung, unhygienische Herstellung sowie Transportmängel zu (DÖRING 1976 a, b; HEDDERGOTT 1969). Außerdem führen Fraßschäden zu Gewichtsverlusten, und eine Änderung von Farbe, Aroma, Säuregrad und technologischer Eignung kann eine erhebliche Qualitätsminderung bedingen (MILATOVIC 1964 a, b). Selbst bei zunächst einwandfreien Lebensmitteln kann nachträglich eine Verschmutzung eintreten, wenn Insekten durch kleinste Öffnungen, besonders an Knick- und Faltstellen der Behältnisse, von außen eindringen (HEISS 1980).

Als Träger pathogener und apathogener Mikroorganismen lösen darüber hinaus tierische Schädlinge oft mikrobiellen Verderb aus (KIERMEIER 1981). So trifft GUTHRY (1980) die generelle Feststellung, daß verschmutzte Lebensmittel eine große Zahl von Mikroorganismen beherbergen, welche dann Fäulnis und Zersetzung verursachen. Weiterhin bedingt der mikrobielle Zerfall toter Insekten in kontaminierter Rohware ein rapides Ansteigen der Mikrobenpopulationen. Bei diesem Vorgang werden

Pilzarten übertragen, die normalerweise nicht zu der üblichen Mikroflora des jeweiligen Lebensmittels gehören (DÖRING 1976 a).

Andererseits bewirkt ein Insekten- und Milbenbefall eine Erhöhung des Feuchtigkeitsgehaltes der Rohware bis zu 1% in einer Woche, der durch die Atmungsaktivität der Tiere hervorgerufen wird. Dies begünstigt ein verstärktes Wachstum von Lagerpilzen und anderen Mikroorganismen (CHRISTENSEN 1962). Aber auch humanpathogenen Hefen und Schimmelpilzen, die gleichzeitig als Lebens- bzw. Futtermittelverderber auftreten können, wird durch Insekten als Zwischenträger eine Besiedlung ermöglicht (RIETH 1973).

Die durch Insektenkontaminationen in Lebensmitteln entstandene Verderbsflora kann außerdem proteolytische Aktivitäten entwickeln, so daß zum Beispiel durch Bildung von biogenen Aminen unspezifische Lebensmittelvergiftungen hervorgerufen werden (KOPPLOW 1952).

In manchen Fällen sollen tierische Kontaminationen - wie ROOS (1949) sowie WINKLE und RHODE (1950) mitteilen - sogar die Ausbildung von Infektionsketten zwischen Wildtier und Mensch (Haustier) über Insekten bzw. Rohware bewirken. Es können schwere seuchenartige Erkrankungen ausgelöst werden, da Nagetiere, Vögel und Insekten häufig ein Reservoir für humanpathogene Krankheitserreger darstellen. Insbesondere von ubiquitär verbreiteten Schaben ist bekannt, daß sie als mechanische Zwischenträger und Dauerausscheider eine Vielzahl von bakteriellen sowie viralen Krankheitserregern (infektiöse Hepatitis, Schweinepest, Rotlauf) auf Lebensmittel, pflanzliche Rohstoffe und Futtermittel übertragen (DÖHRING 1967, 1972). Nach Untersuchungen von CHRISTIE (1980), STEIN (1977) und WRIGHT (1983) übertragen Fliegen mit Kontakt zu Faeces und Lebensmitteln manchmal enteropathogene Mikroorganismen wie Campylobacter jejuni. Bei einer epidemiologischen Studie an Vogelfedern stellten BERDING (1970) sowie HOFFMANN et al.

(1960) fest, daß Salmonellen auf diesem Substrat bis zu vier Jahren infektionsfähig bleiben.

Letztlich enthält der Körper von Schaben und vieler anderer Insekten auch ein chemisch noch nicht näher definiertes Allergen, das durch Kochen nicht zerstört wird. In größeren Mengen ließ sich dieser Stoff in durch Schaben verunreinigten Lebensmitteln ermitteln (FUCHS 1972).

2.3.3.2.1 Rechtliche Stellung

Über die Methodik und Auswertung des Filthnachweises existieren in der Bundesrepublik Deutschland noch keine Vorschriften und eine international verbindliche Regelung steht bisher gleichfalls aus. Abgesehen von hygienischen Gesichtspunkten können aus dem Mangel kodifizierter Normen schwerwiegende Folgen für den Export von Lebensmitteln entstehen, wenn Ausfuhren mit den in den USA gültigen Verfahren überprüft werden (KIERMEIER 1981). Bereits HAMPEL (1952, 1971) und HANSSEN (1954) berichteten in ihren Arbeiten über die ständigen Kontroversen, die europäische Brotexporteure mit den US-Behörden aufgrund immer schärferer Kontrollen führten. Wenn die amerikanischen Kontrollorgane auch keine offiziellen Toleranzgrenzen für den Filth-Test festgelegt haben, so wenden sie doch gelegentlich das Prinzip der Nulltoleranz an (DÖRING 1976 b).

Durch die sich ständig erweiternden Handelsbeziehungen mit den Entwicklungsländern und die Einfuhr von Rohwaren und Halbfertigprodukten aus diesen Regionen in die Bundesrepublik gewinnt der Filthnachweis an Aktualität (DÖRING 1976 a). Die Notwendigkeit eines Nachweises von Schmutzpartikeln belegen auch Erhebungen an importierten Lebensmitteln wie Erdnüssen und sämtlichen Getreidearten, wonach bei diesen Lebensmitteln mit einem umfangreichen Insektenbefall zu rechnen ist (WOHLGEMUTH und REICHMUTH 1977). Die Situation kann sich nach ZACHER und

LANGER (1964) insoweit verschlechtern, als sich Vorratsschädlinge aufgrund ihrer enormen Reproduktionsrate während der Lagerung und des Umschlagens durch Fördersysteme und Transportmittel weiter verbreiten. Als Nachteil gilt auch, daß sich die Bestimmungen des deutschen Quarantänegesetzes auf Vorratsgüter pflanzlichen Ursprungs beschränken (KIERMEIER 1981), obwohl eine Reihe von Vorratsschädlingen auch auf tierischen Produkten (Trockenei, Trockenmilch, Häute, Rohfelle, Därme, Trockenfisch, Fisch-, Fleisch-, Blut-, Knochen- und Tierkörpermehle) vorkommt (ROTSCH und MENGER 1967).

2.3.3.3 Zur Methodik des Filth-Testes

Die methodischen Schwierigkeiten des Filth-Testes liegen in der Probenaufbereitung und vor allem in der mikroskopischen Identifizierung kleinster Insekten, Haar- und Federpartikel. Typische anatomische Merkmale können durch den Verarbeitungsprozeß und den Materialaufschluß verändert werden oder sogar verloren gehen (BERNAERTS 1963; DÖRING 1976 a, b; HAMPEL 1952, 1956, 1965, 1970, 1971; HANSSEN 1954; HANSSEN et al. 1971; MAES und PEETERS 1959; PEETERS 1953; ULRICH 1971). Für den Nachweis von "light filth" sollen die üblicherweise angewandten Bestimmungsverfahren, die sich vornehmlich an den AOAC-Richtlinien orientieren, erläutert und ihre Fehlermöglichkeiten aufgezeigt werden.

Zur Bestimmung von Haaren, Federn und Insektenfragmenten in Gewürzen, Trockenfrüchten, Nüssen und dergleichen wird häufig nur ein Flotationsverfahren ohne jeglichen Probenaufschluß eingesetzt (vgl. 2.3.3.1). Bei leicht löslichen Substanzen wie Zucker, Honig, Sirup oder Salz ist eine Filtration unter Zusatz von Tensiden vorgesehen, die eine beschleunigte Anreicherung der Filthpartikel an der Oberfläche der wässrigen Lösung ermöglichen. Sofern es sich jedoch um schwer- bzw. unlösliches Material handelt, muß dem eigentlichen Trennvorgang eine Probenaufbereitung vorgeschaltet sein. Sie basiert

nach der zusammenfassenden Darstellung von DÖRING (1976 a, b) im allgemeinen auf dem Prinzip der Säure- bzw. Enzymhydrolyse oder auf einer Kombination beider Verfahren. Ein solcher Aufschluß ist in erster Linie bei Mehlen und Backwaren aller Art sowie bei Lebensmittelpasten, Suppen und Saucen erforderlich. Anschließend erfolgt die Isolierung der Filthpartikel in einem Zweiphasensystem, zum Beispiel HCl/Paraffinöl. Nach Abtrennung der mit tierischen Resten angereicherten Paraffinschicht und Entfettung des Probenrückstandes über ein Filter erfolgt die mikroskopische Auswertung der Teilchen.

Fehlermöglichkeiten ergeben sich häufig bei der Überführung der aufgeschlossenen Proben in das Zweiphasensystem Wasser/Paraffinöl in einem Scheidetrichter oder der Auffangvorrichtung ("trap") nach WILDMAN. Hier sind oft zahlreiche Ausschüttelungen zur Abtrennung erforderlich, was große Flüssigkeitsvolumina erfordert und das Verhältnis von gesuchter Substanz zum Flüssigkeitsvolumen und der Oberfläche des Gefäßes sehr ungünstig gestaltet. Außerdem besteht die Gefahr von Substanzverlusten durch Absorption an der Glaswand. Darüber hinaus können unerwünschte Verunreinigungen in die abzutrennende Phase eingeschleppt werden (HADORN und ZORCHER 1973). Nach HARRIS (1941) führt die Bildung schaumiger Emulsionen durch Schütteln und das Hängenbleiben von Öltröpfchen an den Glaswandungen manchmal zu weiteren Filthverlusten. BRICKEY et al. (1968) berichten, daß sich bei der Untersuchung von Mehlen denaturierte Kleberbestandteile und winzige Zellulosebruchstücke in den Grenzflächen zwischen beiden Phasen anreichern. Eine solche Barriere erschwert das Aufsteigen von Haaren, Federn und Insektenteilen in die Ölschicht.

Die enzymatische Spaltung vermochte nur bei wenigen Produktgruppen - wie Käse, Fruchtpasten, tomaten- und fleischhaltigen Lebensmitteln - den Säureaufschluß zu verdrängen (BUSS 1958; GECAN und ALIOTO 1973; STEPHENS 1967; TEASLEY 1963; VAZQUEZ und COOPER 1964; WHEELER 1963). Die Gründe für den geringen Einsatz von Fermenten, wobei vorwiegend Hydrolasen zur

Diskussion stehen, sind vielschichtig. Neben dem hohen Zeitaufwand, einer ausgeprägten Substratspezifität, der Wärme- und pH-Empfindlichkeit lassen die inhibitorische Wirkung von Konservierungsmitteln, Detergentien sowie Schädlingsbekämpfungsmitteln jede enzymatische Hydrolyse als sehr störanfällig erscheinen.

2.3.3.3.1 Selektive Anfärbungen

Um den Material- und Zeitaufwand des Probenaufschlusses sowie Fehlerquellen und Fehlbeurteilungen bestehender Nachweisverfahren zu minimieren, entwickelte DÖRING (1976 a, b) histologische Färbetechniken mit dem Ziel, tierische Verunreinigungen direkt im Lebensmittel selektiv anzufärben. Die erste Färbemethode galt dem Nachweis von Insektenpartikeln (Chitin) unter Verwendung des stark fluoreszierenden Xanthenfarbstoffes "Phloxin B" und beruhte auf Adsorptionsvorgängen (DÖRING und BIELIG 1974). Ein weiteres Verfahren diente der Darstellung von Haaren und Federn (Keratin) mit Hilfe des Farbstoffes "Remazolbrillantblau R" und basierte auf der Salzbildung bzw. auf der Ausbildung von van der Waals'schen Kräften mit den SH-Gruppen des Cysteins (DÖRING und BIELIG 1972, 1978). Zusätzlich wurde eine spezielle Transparentmachung randhydrophobierter Membranfilter geschaffen, um die gefärbten tierischen Partikel in der Rohware später quantitativ auswerten zu können.

2.3.3.4 Fremdkörper im Ei

Nach GRZIMEK und PUSCH (1969), LERCHE et al. (1957), RAUCH (1968) sowie WUNDRAM und SCHÖNHERR (1962) ist es durchaus nicht ungewöhnlich, daß im Eiklar oder Dotter neben Blut- bzw. Fleischflecken, die durch Einreißen des Dottersäckchens oder Eierstockserkrankungen entstehen, auch Fremdkörper enthalten sind. So lassen sich gelegentlich Sandkörner, Steinchen,

Insekten, Federstückchen und andere Schmutzteilchen isolieren. Sogar Parasiten (Spul-, Bandwürmer), Spelzen oder Kotteile werden manchmal mit in das Ei eingeschlossen. Derartige Partikel gelangen vornehmlich bei der Geschlechtsdifferenzierung der Tiere (GRZIMEK und PUSCH 1969) oder nach der Begattung durch die Saugbewegung des Legedarmes aus der Kloake in den Eileiter und damit in das hier entstehende Ei (LERCHE et al. 1957).

Im Hinblick auf die sekundären Verunreinigungen ist durch die Arbeiten von HERRMANN (1963) sowie ROTSCH und MENGER (1967) bekannt, daß auch tierische Produkte, darunter Trockenei, von zahlreichen Vorratsschädlingen befallen sein können. In Abhängigkeit von den Lagerungsbedingungen, vom Frischegrad und Verarbeitungszustand der Eier kommt auch eine Kontamination von Eiprodukten mit Vogelkot, Schmutz, Sand, Metallsplittern, Haaren und Federteilchen vor (HORWITZ 1980).

2.3.4 Harnsäure

Die vorliegende Literaturübersicht behandelt einmal den Stoffwechsel der Harnsäure und andererseits ihre mögliche Indikatorfunktion für die Hygiene der Eiproduktgewinnung.

2.3.4.1 Bildung von Harnsäure

Vögel und auch landbewohnende Reptilien, deren Wasseraufnahme beschränkt ist, scheiden Harnsäure als wichtigstes Endprodukt des Proteinkatabolismus in den Exkrementen aus, während Säugetiere ihren Amino-Stickstoff in der Leber über den sog. Harnstoff-Zyklus verstoffwechseln und zahlreiche niedrig organisierte Wassertiere Ammoniak direkt an die wässrige Umgebung abgeben (HARPER et al. 1975; LEHNINGER 1977). Je nach Fütterung der Hühner können durch die schwerlösliche, halbfeste Harnsäuresuspension bis zu 84.1% des Gesamtstickstoffs

(440 mg/100 ml Urin) exzerniert werden (SYKES 1971).

Die Bildung von Harnsäure (vgl. Strukturformel in 3.2.5.1) aus Ammoniak gestaltet sich recht aufwendig, da der Purinring unter Energieverbrauch aus niedermolekularen Vorstufen synthetisiert werden muß (LEHNINGER 1977). Als erster Schritt wird das bei der Desaminierung verschiedener α-Aminosäuren anfallende Ammoniak in die Amid-Gruppe des Glutamins überführt, indem die Glutamin-Synthetase unter ATP-Verbrauch die Bildung von Glutamin aus Glutamat und Ammoniak katalysiert. Dieses Enzym, das FAZEKAS und DENES (1966) aus Hühnerleber isolieren konnten, spielt im Intermediärstoffwechsel der Aminosäuren eine wichtige Rolle, denn Glutamin fungiert nicht nur als ungiftige Transportform des Ammoniaks, sondern beteiligt sich auch zusammen mit den beiden anderen Aminosäuren Glycin und Asparaginsäure an der Purinkörperbildung als Aminogruppen-Donator (BOORMAN und LEWIS 1971).

Die folgende, in der Vogelleber ablaufende Reaktionskette stimmt in vielen Schritten mit der Biosynthese der Purinnucleotide Adenosin sowie Guanosin überein. Nach den Untersuchungsergebnissen von BUCHANAN (1973), GREENBERG (1970) und HARTMAN (1963) beginnt der Vorgang mit der Übertragung einer Aminogruppe (Glutamin) an die Position 1 von 5-Phospho-D-Ribose-1-Pyrophosphat, wobei Pyrophosphat abgespalten wird. Anschließend kondensiert Glycin mit dieser Aminogruppe unter Mitwirkung von ATP zum Amid, womit das Kernstück des Purinrings angelegt ist. Den sukzessiven Additionen einer Formyl-Gruppe und einer weiteren Amino-Gruppe (Glutamin) an den Glycinamid-Rest schließt sich der Ringschluß zum Imidazolring an, wobei 1 Mol ATP verbraucht wird. In nachfolgenden Reaktionen wird auch der zweite Ring des Purinkernes aufgebaut und geschlossen, indem zunächst Kohlensäure (als Bikarbonat) angelagert und in das Amid überführt wird. Dabei dient Asparaginsäure als NH_2-Überträger. Schließlich wird der Sechsring unter Eintritt aktivierter Ameisensäure geschlossen. Als erstes Purinderivat entsteht damit Inosinsäure, die durch

phosphorolytische Abspaltung der Ribose zu Hypoxanthin umgewandelt wird. Nach RICHERT und WESTERFELD (1951) sowie SYKES (1975) wird Hypoxanthin durch eine geflügelspezifische Xanthindehydrogenase über Xanthin zu Harnsäure oxidiert. Dieses Enzym ist nicht nur in der Leber, sondern auch in der Niere aktiv (LANDON und CARTER 1960).

Bei manchen Vertebraten einschließlich der Primaten, des Dalmatinerhundes, einiger Reptilien und auch der Vögel tritt Harnsäure außerdem als Endprodukt des Purinabbaus auf (LEHNINGER 1977). Für die Umwandlung überschüssiger Purinbasen in Harnsäure existieren nach KARLSON (1980) zwei Abbauwege. Zum einen wird vom Guanosin zunächst die Ribose hydrolytisch abgespalten und das entstandene Guanin dann zu Xanthin desaminiert, zum anderen wird Adenosin durch eine Desaminierung zu Inosin sowie durch phosphorolytische Abspaltung der Ribose weiter zu Hypoxanthin verstoffwechselt. Die sich anschließende Oxidation zum stickstoffhaltigen Endprodukt Harnsäure katalysiert - wie bereits erwähnt - die geflügelspezifische Xanthindehydrogenase.

Eine Überproduktion von Harnsäure kann durch ihre Ablagerung in Knorpel- bzw. viszeralem Faszengewebe auch beim Geflügel zur Gicht führen (KOLB 1980; BELL 1971).

2.3.4.2 Harnsäure als Indikatorsubstanz

Wie die an verschiedenen Getreideprodukten, getrockneten Pilzen sowie Trockenmilchen durchgeführten Analysen zeigten, ist ein Insektenbefall nicht nur mit Hilfe des Filth-Testes, sondern auch indirekt durch enzymatischen oder dünnschichtchromatographischen Nachweis der Harnsäure erfaßbar (HORWITZ 1980; LAESSIG et al. 1972; MLODECKI et al. 1972; PACHLA und KISSINGER 1977; ROY und KVENBERG 1981; SEN 1968; SEN und VAZQUEZ 1969). Die dazu erforderliche Stoffwechsel- und Reproduktionsleistung der Insekten, die in ihrem Fettkörper

Harnsäure synthetisieren (WEBER und WEIDNER 1974), ließen sich in Modellversuchen überzeugend demonstrieren. So konnte HOLMES (1980) mit Reismehlkäfern nachweisen, daß im Verlauf der Lagerung nicht unerhebliche Mengen an Harnsäure ausgeschieden werden. Schon nach vier Tagen betrug die je Käfer gebildete Harnsäure 0.1 mg/100g Weizenmehl. Bei der Interpretation derartiger Daten ist jedoch zu beachten, daß die Harnsäureproduktion in den verschiedenen Stadien der Metamorphose variiert. Die Larven erzeugen beispielsweise mehr Harnsäure als adulte Insekten. In diesem Zusammenhang wies PIXTON (1965) auf den Vorratsschädling Tribolium confusum hin, dessen Befall durch Harnsäure nur dann indiziert wird, wenn sich in mindestens zweiwöchiger Lagerzeit eine ausreichende Populationsdichte herausgebildet hat. Generell kann der Harnsäurenachweis nicht zur Beurteilung der weiteren Lagerfähigkeit herangezogen werden, sondern nur als Beweis einer früheren Kontamination dienen.

Die dünnschichtchromatographische Bestimmung der Harnsäure wird außerdem als Indikator für die Verunreinigung mit Vogelexkrementen empfohlen (BRICKEY 1978; HORWITZ 1980). Gerade für Schaleneier bzw. Eiprodukte erscheint ein solcher Nachweis insofern relevant zu sein, als zahlreiche Autoren (BOARD et al. 1964; HAINES 1939; HORWITZ 1980; McFARLANE et al. 1945; PENNISTON und HEDRICK 1947; ROMANOFF und ROMANOFF 1963; ROSSER 1942; SCHNEITER et al. 1943; SOLOWEY et al. 1946; WINTER und WRINKLE 1949; WRINKLE et al. 1950; ZAGAEVSKY und LUTIKOVA 1944) auch die harnsäurereichen Hühnerexkremente für deren Keimkontamination verantwortlich machen. Da das Ei beim Legen nicht den kothaltigen Abschnitt der Kloake passiert (GRZIMEK und PUSCH 1969), gelangen Faeces hauptsächlich durch Kontakt mit verschmutztem Nestmaterial oder unsauberem Käfigboden auf die Eischale. Nach DUGGAN (1946) ist nicht auszuschließen, daß kotverschmierte Eischalenbruchstücke auch beim Aufschlagen Flüssigeierzeugnisse verunreinigen.

Andererseits konnten DE BOECK et al. (1970) sowie IMURA und NONAMI (1972) Harnsäure neben anderen Purinderivaten als physiologischen Bestandteil in Eiklar und Dotter von Hühnern bzw. Enten mit Hilfe der Ionenaustauschchromatographie nachweisen.

3. EIGENE UNTERSUCHUNGEN

3.1 Material und Probenentnahme

Die Untersuchung erstreckte sich auf die beiden Eiprodukte Flüssigvollei und Flüssigeiklar vor der Pasteurisierung, wobei das Material aus drei verschiedenen Produktionsstätten stammte:

- einem Berliner Herstellerbetrieb für Eiprodukte (Herkunft: A),
- einem Spezialbetrieb aus der DDR, der den Berliner Betrieb mit Flüssigrohware belieferte (Herkunft: B) und
- einer westdeutschen Eiproduktefirma (Herkunft: C).

Die Herstellung der Flüssigeiprodukte erfolgte in dem Berliner Betrieb ausschließlich maschinell. In Westdeutschland aufgekaufte Schaleneier der Güteklasse A wurden mit Hilfe einer mechanischen Aufschlagvorrichtung in Eischale und Eiinhalt getrennt, der Inhalt unter der Kontrolle von Aufsichtspersonal in Eiklar und Eigelb separiert und dann produktspezifisch dem jeweiligen Verarbeitungsprozeß zugeführt. Außerdem verarbeitete dieser Betrieb zugekaufte Rohware. Sie war tags zuvor oder noch am Tag der Anlieferung in einem DDR-Betrieb aufgeschlagen und in 500-l-Kunststoffcontainern mit Kühltransportern angeliefert worden. Welche Rohstoffe pasteurisiert und gegebenenfalls weiterverarbeitet wurden, hing hauptsächlich von der Angebotslage für Schaleneier ab. Waren diese knapp bzw. teuer, so wurde zusätzlich oder sogar ausschließlich DDR-Rohware verarbeitet. Die Flüssigeiproben aus der DDR und dem Berliner Betrieb wurden entweder gegen Mittag direkt aus den 500-l-Containern nach Ankunft im Pasteurisationswerk oder am Vormittag unmittelbar nach dem Aufschlagen der Schaleneier aus der Sammelwanne entnommen. Das Probenmaterial aus Westdeutschland wurde dem Institut für Lebensmittelhygiene

- tiefgekühlt und in transparenten Kunststoffbeuteln einzeln abgepackt - vom Veterinäruntersuchungsamt Vechta via Fernversand zugestellt.

Während über die näheren Umstände der Probenentnahme bei Material der Herkunft C keine näheren Angaben gemacht werden können, wurden die Flüssigeiproben von dem Berliner Weiterverarbeiter (Herkunft A und B) nach der Maßgabe der Anlage 2 zu den §§ 5 (2) 1 und 8 (2) der Eiprodukte-VO (1975) unter sterilen Kautelen mit einer Schöpfkelle von verschiedenen Stellen entnommen und in keimfreie und transparente 250 ml-Einwegkunststoffbehältnisse gefüllt. Nachdem die Behältnisse keimdicht verschlossen worden waren, wurden sie im Laborkühlschrank bei max. 6°C gelagert, ehe sie noch am Tag der Probenentnahme bakteriologisch untersucht wurden.

Insgesamt gelangten 76 nicht pasteurisierte Flüssigeiprodukte des Handels, die aus drei verschiedenen Herkunftsbereichen stammten und zu unterschiedlichen Jahreszeiten (Frühjahr, Frühsommer und Hochsommer 1983) entnommen wurden, zur Untersuchung. Als Beurteilungskriterien sollten neben dem Keimstatus, dem pH-Wert und dem sensorischen Befund die tierischen Verunreinigungen (Insektenpartikel, Federbartstrahlen und Haare, Eischalenreste) sowie der Harnsäuregehalt dienen. Zur Erfassung der beiden letztgenannten Merkmale mußten die bisher bekannten Untersuchungstechniken modifiziert und an das Substrat Flüssigei adaptiert werden.

3.2 Methodik

3.2.1 Keimzahlbestimmung

3.2.1.1 Probenvorbereitung

Von jeder Probe wurden für die bakteriologische Untersuchung insgesamt ca. 2 ml frisches Material benötigt. Nach der Richtlinie der Anlage 2 zur Eiprodukte-VO (1975) wurde jede Flüssigeiprobe vor der Untersuchung intensiv mit einer sterilen 1 ml Pipette durchmischt und anschließend mit unverdünntem Probenmaterial in Reagenzgläsern eine dezimale Verdünnungsreihe von 10^{-1} bis 10^{-7} hergestellt. Eine intensive Durchmischung innerhalb der Verdünnungsstufen erfolgte mit Hilfe des "Whirl Mix" (Fa. CENCO), sowie durch mehrfaches Aufziehen und Auslaufenlassen des Pipetteninhaltes beim Überpipettieren.

3.2.1.2 Kulturverfahren

Zur Keimzahlbestimmung und selektiven Züchtung der verschiedenen Keimgruppen wurden die in Tabelle 3 aufgeführten Nährmedien benutzt, deren Abkürzungen im folgenden erklärt werden:

Iso-Agar = Pepton-Fleischextrakt-Hefeextrakt-Glucose-Agar nach REUTER (1968)

La-Agar = Laktobazillenagar nach REUTER (1970)

Ls-Agar = Laktobazillenagar mit einem Zusatz von 0.04% Sorbinsäure und einer pH-Wert-Einstellung auf 5.0 (REUTER 1970)

VG-Agar = Kristallviolett-Neutralrot-Galle-Glucose-Agar (Violet Red Bile Glucose Agar) nach MOSSEL et al. (1978). Fertignährböden der Firma OXOID

VL-Agar = Kristallviolett-Neutralrot-Galle-Lactose-Agar (Violet Red Bile Agar). Fertignährböden der Firma OXOID

En-Agar = Citrat-Azid-Tween-Karbonat-Medium nach REUTER (1968)

KRANEP-Agar = Kaliumrhodanid-Actidione-Natriumazid-Eigelb-Pyruvat-Agar nach SINELL und BAUMGART (1967)

GSP-Agar = Glutamat-Stärke-Penicillin-Agar nach KIELWEIN (1969, 1971 a, b). Fertignährböden der Firma MERCK

Tabelle 3: Nährmedien zur Keimzahlbestimmung und Differenzierung der verschiedenen Keimgruppen

Nährmedien	Mikroorganismen	Bebrütung Dauer (Tage)	Bebrütung Temperatur	Bebrütung Milieu
Iso-Agar	Gesamtflora	2	30°C	aerob
		2	37°C	aerob
La-Agar	Laktobazillen	2	30°C	anaerob
Ls-Agar	Laktobazillen	2	30°C	anaerob
VG-Agar	Enterobakteriazeen	2	30°C	anaerob
VL-Agar	Coliforme Keime	2	30°C	anaerob
En-Agar	Enterokokken	2	37°C	aerob
KRANEP-Agar	Mikrokokken/ Staphylokokken	2	37°C	aerob
GSP-Agar	Pseudomonaden/ Aeromonaden	3	22°C	aerob

Die Nährbodenplatten wurden im Brutschrank vorgetrocknet und nach dem Drop-Plating-Kultivierungsverfahren (REUTER 1968, 1970; SINELL 1967, 1971; SINELL et al. 1965, 1966; UNTERMANN 1970) beimpft. Zur Durchführung dieser Beimpfungstechnik wurden jeweils 0.05 ml von der unverdünnten Probe bzw. von

sieben aufeinanderfolgenden Verdünnungsstufen auf die entsprechend gekennzeichneten Sektoren aufgetragen (REUTER 1970). Nach dem Antrocknen des mit der Pipettenspitze in das verfügbare Plattensegment ausgezogenen Tropfens wurden die Platten bei den in Tabelle 3 angegebenen Temperaturen unter teils aeroben und teils anaeroben Bedingungen (Anaerobiertopf mit gasbildenden Zusätzen; GAS-GENERATING-KIT) mit der Schichtseite nach oben inkubiert.

3.2.1.3 Auswertung

Nach der Maßgabe der Anlage 2 der Eiprodukte-VO (1975) und in Übereinstimmung mit Literaturangaben (MOHS 1975; REUTER 1970; UNTERMANN 1970) wurden zur Errechnung der Keimzahl die bewachsenen Flächen derjenigen Verdünnungsstufen herangezogen, auf denen zwischen 20 und 100 gut zählbare, klar voneinander abgegrenzte Kolonien vorhanden waren. Dabei wurde die Zahl der Kolonien auf dem Plattensektor der Grundverdünnung mit 10^2, auf denen der folgenden Verdünnungsstufen mit 10^3 bis 10^8 multipliziert. Die anhand der ausgezählten Kolonien ermittelten Keimzahlen wurden stets als dekadische Logarithmen angegeben und unter Zuhilfenahme folgender Lokalisations- und Dispersionsmaße zur Auswertung herangezogen:

a) Lokalisationsmaße:

1. arithmetisches Mittel $\bar{x} = \frac{1}{n} \sum_{i=1}^{n} x_i$

2. Median $\tilde{x} = x_{(\frac{n+1}{2})}$ (für ungerade n)

$$\tilde{x} = \frac{x_{(\frac{n}{2})} + x_{(\frac{n}{2}+1)}}{2}$$ (für gerade n)

Die Anwendung des Medians hat den Vorteil, daß er im Gegensatz zum arithmetischen Mittel von Extremwerten völlig unbeeinflußt bleibt (RUSCH und DEIXLER 1962; SMITH 1958). Dies ist insbesondere dann von Bedeutung,

wenn, wie in dieser Arbeit, einige Werte unter der Nachweisgrenze liegen und folglich unbestimmt bleiben müssen.

b) Dispersionsmaße:

1. Varianz $s^2 = \frac{1}{n-1} \sum_{i=1}^{n} (x_i - \bar{x})^2$

2. Standardabweichung $s = \sqrt{\frac{1}{n-1} \sum_{i=1}^{n} (x_i - \bar{x})^2}$

3. Variationskoeffizient $V\ (\%) = \frac{s}{\bar{x}} \cdot 100$

3.2.2 pH-Wert-Messung

Der pH-Wert des verbliebenen Probenmaterials wurde im Anschluß an die mikrobiologische Untersuchung mit dem pH-Meter der Firma KNICK Typ 510 in Verbindung mit einer Micro-Einstabmeßkette HA 405 M8 der Firma INGOLD gemessen.

3.2.3 Sensorische Untersuchung

Die organoleptischen Befunde wurden ebenfalls wie die bakteriologische Untersuchung am Tage der Probenentnahme erhoben, wobei Aussehen (Farbe, Verunreinigungen), Konsistenz (dünn- oder zähflüssig, klebrig-fadenziehend) und Geruch (einwandfrei, säuerlich, faulig, fruchtig, nach H_2S) der Flüssigeiproben geprüft wurden (HILLIG et al. 1960; HORWITZ 1980; LEPPER 1956; LITTMANN 1981). Da weder Vollei noch Eiklar pasteurisiert waren, wurde wegen möglicher Infektionsgefahr auf eine Geschmacksuntersuchung verzichtet (SCHOLTYSSEK et al. 1981). Bei eben noch wahrnehmbaren Geruchsabweichungen wurden zur Absicherung des sensorischen Befundes weitere Personen zur Untersuchung mit herangezogen.

3.2.4 Filth-Test

Um die drei Färbungen zum Nachweis von tierischen Verunreinigungen zu entwickeln, mußte eine Reihe von Vorversuchen mit Flüssigvollei und -weißei durchgeführt werden. Die hierzu verwendeten Eier waren frisch (Güteklasse A) und sind im Labor unter nichtsterilen Bedingungen aufgeschlagen und homogenisiert (vgl. 3.2.5.3.1 und 3.2.5.4.1) worden. Die Lagerung zwischen den Versuchen erfolgte in 1-l-Bechergläsern, abgedeckt mit Aluminiumfolie, im Kühlschrank bei 6°C.

3.2.4.1 Färbung zur Identifizierung von Insektenfragmenten

Bevor die Selektivfärbung von Chitin mit dem roten Farbstoff Phloxin B im Filtrationsgefäß durchgeführt werden konnte, wurde das eiweißreiche Substrat enzymatisch aufgeschlossen und über einen randhydrophobierten Membranfilter abgesaugt. Dadurch war es möglich, die störenden Einflüsse des Probenmaterials auf den Färbevorgang auszuschalten und gleichzeitig die Insektenpartikel vollständig über den 8 µm großen Maschen des Filters zu erfassen. Nach Auswaschung des überschüssigen Farbstoffs wurde das Membranfilter getrocknet, mit der Transparenzflüssigkeit in einen durchsichtigen Film auf Dia-Gläsern überführt und im Anschluß an die Trocknung mikroskopisch ausgewertet.

3.2.4.1.1 Vorversuche zur Selektivfärbung im Eiprodukt

Mehrere Hausfliegen (Musca domestica L.) wurden in einem Porzellanmörser mittels Pistill zu einem feinfragmentierten und trockenen Pulver zerrieben. An diesem Material sollte überprüft werden, ob der von DÖRING und BIELIG (1974) beschriebene färberische Nachweis von Insektenfragmenten in pflanzlichen Rohwaren sich auf Lebensmittel tierischer

Herkunft wie Flüssigvollei und -eiklar übertragen läßt. Der Versuchsaufbau richtete sich deshalb eng an DÖRING's Färbeanweisung (1976 a):
Nachdem 2 ml homogenisierte Flüssigeiprobe in einen 50 ml Erlenmeyerkolben pipettiert und mit Insektenfragmenten versetzt waren, erfolgte der Zusatz von 20 ml HCl (pH 4), 3 ml n-Propanol und 0.2 ml Dioxan unter vorsichtiger Durchmischung der Probe. Nach der Zugabe von 1 ml Phloxin B und 2 ml Ammoniumchlorid trat eine Rotfärbung des flüssigen Substrates ein. Die Probe wurde anschließend 10 min lang im Schüttelthermostaten (Firma KÖTTERMANN) bei 90°C erwärmt. Nach Beendigung der Inkubation mußte der Versuch abgebrochen werden, da während der Erhitzung die Eiweiße der Probe koagulierten und damit der Filtrationsvorgang durch drohende Verstopfung der nur 8 µm großen Membranfilterporen unmöglich wurde. Nach persönlicher Mitteilung von DÖRING (1982) ist eine Inkubation der Proben bei 90°C aber notwendig, um den Färbevorgang, d.h. die Adsorption der aromatischen Reste des Farbstoffes Phloxin B an die Molekülketten des Chitins, zum Abschluß zu bringen. Da Dauer und Höhe der Temperatureinwirkung nicht zu verändern waren, mußten die Proben stärker verdünnt werden, um Filtrierfähigkeit zu erlangen. Aber auch maximal 1:10 (1 ml Flüssigei + 9 ml Aqua dest.) verdünnte Proben konnten zwar ohne vorherige Hitzeeinwirkung filtriert werden, mit Erwärmungsbad jedoch verstopften sie das Filter und führten deshalb zum vorzeitigen Abbruch der Versuche. Am Ende dieser Vorversuche stand fest, daß die DÖRING'sche Originalmethode nicht ohne erhebliche Modifikationen der Aufarbeitungstechnik für den Nachweis von Insektenfragmenten in Flüssigeiproben übernommen werden konnte.

3.2.4.1.2 Probenaufbereitung

Um die Filtrierbarkeit der Proben zu gewährleisten, wurde versucht, die Strukturproteine der Eiprodukte enzymatisch aufzuspalten.

a. Reagenzien:
   - Trypsinlösung: 0.2 g Trypsin (20000 E/g; MERCK, Art.-Nr. 8214) wurden in 50 ml 0.001 n HCl gelöst (BERGMEYER 1974).
   - Phosphatpuffer (0.1 M; pH 7.6): 1.57 g Kaliumdihydrogenphosphat (MERCK, Art.-Nr. 4873) und 15.75 g Dinatriumhydrogenphosphat (MERCK, Art.-Nr. 6580) wurden in 1000 ml Aqua bidest. gelöst (BERGMEYER 1974).

b. Insektenfragmente: vgl. 3.2.4.1.1

Für eine Spaltung der Eiproteine wurde die Endopeptidase Trypsin (KARLSON 1980; STOLL 1972) und eine entsprechende Verdünnung der Probe mit einem Puffer gewählt, dessen pH-Wert für ein Wirkungsoptimum des Enzyms sorgte (BERGMEYER 1974). Nach zahlreichen Vorversuchen konnte für die Eiproben ein Aufbereitungsweg gefunden werden, der sowohl die vollständige Filtrierfähigkeit durch das Membranfilter sicherstellte als es auch gestattete, den Probeneinsatz von 2 ml auf max. 10 ml zu erhöhen:

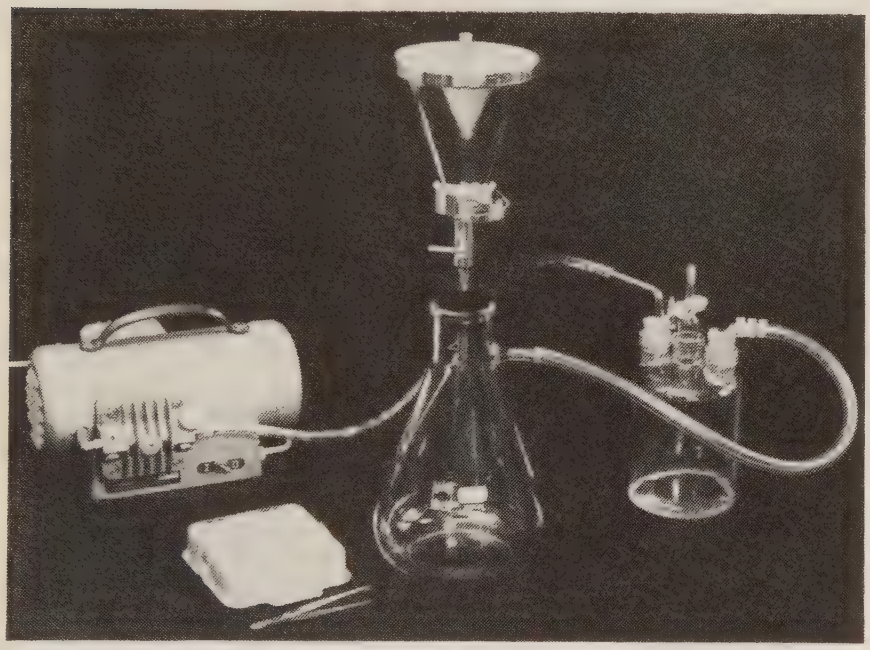
10 ml einer homogenisierten Probe, die mit Insektenfragmenten versetzt war, wurden in einen 300 ml Erlenmeyerkolben überführt. Dieser enthielt 100 ml Phosphatpuffer und 80 ml Trypsinlösung bei einer flüssigen Eiklarprobe oder 100 ml Phosphatpuffer und 100 ml Trypsinlösung bei einer flüssigen Volleiprobe. Der Erlenmeyerkolben wurde anschließend gründlich geschwenkt und mit Aluminiumfolie abgedeckt. Die Inkubation zum Aufschluß der Proben erfolgte in einem Trockenschrank bei 37°C mindestens 20 Std. lang. Die Proben wurden nach Ablauf der Inkubationszeit mit Aqua dest. bis zur 300 ml Marke aufgefüllt und geschwenkt.

3.2.4.1.3 Filtration, Färbung mit Phloxin B und Transparenz

a. Reagenzien und Materialien:
- HCl, pH 4: 1 ml einer 0.1 n HCl wurden mit 1000 ml Aqua dest. verdünnt.
- Phloxin B (0.1%ig in HCl, pH 4): 0.1 g Phloxin B (C.I.-Nr. 45 405; MERCK, Art.-Nr. 1371) wurden in 100 ml HCl, pH 4 gelöst.
- Ammoniumchloridlösung (10%ig): 10 g Ammoniumchlorid (MERCK, Art.-Nr. 1145) wurden in 100 ml Aqua dest. gelöst.
- Pyridinlösung (15%ig): 15 ml Pyridin (MERCK, Art.-Nr. 9728) wurden mit Aqua dest. bis zur 100 ml Marke aufgefüllt.
- Dioxan: (MERCK, Art.-Nr. 9671)
- n-Propanol: (MERCK, Art.-Nr. 997)
- Transparentflüssigkeit: 1 ml Pyranton A (MERCK, Art.-Nr. 804512) wurden mit 6 ml Butylacetat (MERCK, Art.-Nr. 9652) und 3 ml Xylol vermischt (DÖRING 1976 a).
- Rowi-Gläser, 7 x 7 cm: (Firma Robert WIDNER, Neuburg/Donau)
- "Transportgestell" für das Filtrationsgefäß: mit Hilfe eines ca. 35 cm hohen Stahlgestelles konnte das von der Saugflasche abgenommene Filtrationsgefäß mühelos transportiert und standsicher an einem anderen Ort aufgestellt werden.

b. Membranfiltersystem (vgl. Abb. 3):
- Edelstahl-Vakuumfiltrationsgerät 47/50 mm, 500 ml: (SARTORIUS, SM 16201)
- Gummistopfen: (SARTORIUS, SM 17004)
- Saugflasche, 2 l: (Firma SCHOTT, Mainz)
- Gummi-Vakuumschlauch, 1 m: (SARTORIUS, SM 16623)
- Labor-Vakuumpumpe, 200 V, 50 Hz: (SARTORIUS, SM 16612)
- Woulff'sche Flasche, 500 ml: (SARTORIUS, SM 16610)
- Edelstahlpinzette: (SARTORIUS, SM 16624)
- Membranfilter aus Zellulosenitrat, 8µm, 50 mm, randhydrophobiert: (SARTORIUS, SM 13101-050 AHN)

Abbildung 3: Darstellung des zum Filth-Nachweis benötigten Membranfiltersystems



Mit der in 3.2.4.1.2 beschriebenen Probenaufbereitung konnten die Flüssigeiproben problemlos filtriert und die den Proben zugesetzten Insektenfragmente über den 8 µm großen Maschen des Membranfilters aufgefangen werden. Im Gegensatz zur DÖRING'schen Originalmethode mußten diese Chitinpartikel erst nach der Filtration selektiv gefärbt werden. Da sich durch den Umschalthebel im Abflußweg (vgl. Abb. 3) ein eigenes ablaufsicheres System im Filtrationsgerät errichten ließ, lag es nahe, die tinktorielle Darstellung der Insektenfragmente wie folgt in den Filtrationsvorgang einzubauen:

Ein Membranfilter wurde auf der Filterscheibe des Filtrationsgerätes eingespannt und der Absaugweg unterbrochen. Der Probeninhalt wurde in einem Schwung eingegossen, sodann das Probengefäß mehrmals mit Aqua dest. ausgespült und die Spülflüssigkeit ebenfalls an den Rand des Filtrationsgefäßes eingegeben. Das Filtrationsgefäß wurde luftdicht verschlossen. Nachdem die Vakuumpumpe auf volle Absaugleistung (10 Torr) eingestellt worden war, wurde der Absaugweg geöffnet, wodurch sich die Probe vollständig über das Membranfilter absaugen ließ. Zum Schluß wurde das Innere des Filtrationsgefäßes mehrmals mit Aqua dest. vom oberen Rand bis zum Membranfilterbereich abgespritzt und die Flüssigkeit ebenfalls abgesaugt. Die Vakuumpumpe wurde abgestellt und der Absaugweg wieder unterbrochen.
Der weitere Arbeitsgang hielt sich eng an DÖRING's Färbeanleitung (1976 a) und mußte wegen der verwendeten organischen Lösungsmittel unter einem Abzug durchgeführt werden:

1. Das Filter wurde mit 20 ml HCl (pH 4), 3 ml n-Propanol und 0.2 ml Dioxan belegt. Das flüssige Medium wurde vorsichtig umgeschüttelt, um eine gute Benetzung aller Partikel zu gewährleisten.
2. Es wurde mit 1 ml Phloxin B unter Zusatz von 2 ml Ammoniumchlorid gefärbt. Die Farbstofflösung wurde vorsichtig umgeschüttelt. Es trat eine Rotfärbung des flüssigen Mediums ein.
3. Das Filtrationsgefäß wurde in dem "Transportgestell" 10 min im Trockenschrank bei 90°C inkubiert.
3. Die Abkühlung auf 10 bis 15°C erfolgte zur Zeitersparnis im Tiefkühlschrank.
5. Die Färbeflüssigkeit wurde mit 10 ml HCl (pH 4) verdünnt.
6. Die Färbeflüssigkeit wurde abgesaugt und das Filter mit HCl (pH 4) ausgewaschen, bis das Filtrat farblos ablief.
7. Abschließend folgte zusätzliches Farbstoffauswaschen bei geöffnetem Absaugweg mit max. 7 ml Pyridinlösung und Nachspülen mit Aqua dest..

Schritt Nr. 7 mußte zusätzlich in die Arbeitsanweisung aufgenommen werden, da trotz reichlicher Farbstoffauswaschung mit HCl (pH 4) keine selektive Kontrastierung entstand, die sich erst durch eine weitere Farbstoffentfernung mit Pyridinlösung einstellte. Das Membranfilter wurde anschließend mit einer Pinzette auf ein saugfähiges Papier gelegt, mit einem umgestülpten 50 ml Becherglas fixiert und gestrafft sowie an der Luft über Nacht ausreichend getrocknet. Danach wurde das Filter mit der beschichteten Seite vorsichtig auf ein Dia-Glas gelegt und mit ca. 0.5 ml des Lösungsmittelgemisches aus Pyranton A, Butylacetat und Xylol transparent gemacht.

3.2.4.1.4 Mikroskopische Auswertung

Das Filter wurde im Mikroskop (Firma Carl ZEISS) bei Lupen- (31.25-fach) bzw. bei 125-facher Vergrößerung rasterförmig durchmustert. Dazu diente eine ca. 0.1 cm dicke, auf 7 x 7 cm zugeschnittene Klarsichtfolie, die mit 0.5 cm^2 großen Zählquadraten versehen war und mit Hilfe von Tesafilmstreifen unter das jeweilige Diaglas geklebt wurde. Die Insektenpartikel ließen sich aufgrund ihrer leuchtend roten bis orangen Anfärbung und ihrer Struktur gut von den zartrosa- bis weißgefärbten eiweißhaltigen Bestandteilen unterscheiden. Alle über 8 µm großen und als Insektenfragmente erkannte Partikel konnten so leicht registriert und ausgezählt werden. Im Hinblick auf eine quantitative Auswertung bot es sich an, die Ergebnisse mit Hilfe von Punktzahlen (PZ) nach folgendem Schema zu bewerten:

Partikelzahl/Gesamtprobe	Punktzahl
0	0
1 - 10	1
11 - 25	1.5
26 - 50	2
>50	3

Tabelle 4: Bewertungsschema für die gefundenen Filthpartikel/ 10 ml Flüssigei

3.2.4.2 Selektive Färbung von Haar- und Federpartikeln

Es wird eine differenzierte Anfärbung von Haaren und Federn in Flüssigei mit dem anionischen Säurefarbstoff Remazolbrillantblau R beschrieben. Die Färbung beruht auf einer Reaktion des Farbstoffs mit den SH-Gruppen der schwefelhaltigen Aminosäuren der Keratine (DÖRING und BIELIG 1972).

3.2.4.2.1 Probenaufbereitung

Haare und Federbartstrahlen, wie sie häufig an Schaleneiern haften, wurden mit Schere und Pinzette so fein wie möglich zerschnitten. Zu 10 ml homogenisiertem flüssigem Eiprodukt wurden dann die kleinstgeschnittenen Haare und Federbartstrahlen zugesetzt. Das weitere Vorgehen entsprach der unter 3.2.4.1.2 geschilderten Anweisung, d.h. es wurden dem Material Trypsinlösung und Phosphatpuffer zugesetzt und 20 Std. bei 37°C inkubiert.

3.2.4.2.2 Filtration, Färbung mit Remazolbrillantblau R und Transparenz

a. Reagenzien:
- HCl, pH 2: 10 ml einer 0.1 n HCl wurden mit Aqua dest. bis zur 100 ml Marke verdünnt.
- N-Cetyl-N,N,N-Trimethylammoniumbromidlösung (0.1%ig): 0.1 g dieser Ammoniumbromidlösung (MERCK, Art.-Nr. 2342) wurden in 100 ml Aqua dest. gelöst.
- Remazolbrillantblau R (0.1%ig): 0.1 g Remazolbrillantblau R (Farbwerke HOECHST, EE AB 505) wurden in 100 ml Aqua dest. gelöst.
- Pyridinlösung (15%ig): vgl. 3.2.4.1.3

b. Membranfiltersystem: vgl. 3.2.4.1.3

Nachdem die Proben vollständig über das Membranfilter filtriert (zur Filtrationstechnik vgl. 3.2.4.1.3) worden waren, galt es zu prüfen, ob die den Eiproben zugesetzten, nun auf dem Membranfilter angesammelten und noch ungefärbten Haar- und Federpartikel gemäß der Färbeanweisung von DÖRING (1976 a) selektiv angefärbt werden konnten. Das Filter wurde dazu nach dem Unterbrechen des Absaugweges unter einem Abzug mit 5 ml HCl (pH 2) belegt und das flüssige Medium vorsichtig umgeschüttelt. Nach Zugabe von 0.2 ml N-Cetyl-N,N,N-Trimethylammoniumbromid und 1 ml Remazolbrillantblau R wurde das Filtrationsgefäß im "Transportgestell" (vgl. 3.2.4.1.3) 10 min im Trockenschrank bei 80°C inkubiert. Anschließend wurde die Farblösung auf etwa das Doppelte des Volumens mit Aqua dest. verdünnt, mit 5 ml Pyridinlösung versetzt, vorsichtig umgeschüttelt und dann abgesaugt. Zur Entfernung des überschüssigen Farbstoffes wurde das Filter bei geöffneter Absaugstellung mit ca. 10 ml Pyridinlösung benetzt und zum Schluß mit Aqua dest. nachgespült. Abschließend wurde das Filter getrocknet und mit dem Pyranton A-Butylacetat-Xylol-Gemisch transparent (vgl. 3.2.4.1.3) gemacht. Bei diesem an der DÖRING'schen Originalmethode orientierten Vorgehen blieben die Haare und Federbartstrahlen im mikroskopischen Bild ungefärbt,

und ihre Präsenz ließ sich nur aufgrund ihrer Struktur erahnen.

Als plausibelste Erklärung für die fehlende Farbaffinität erschien zunächst, daß die Inkubation der Proben in Trypsin-Pufferlösung (vgl. 3.2.4.2.1) die Struktur und damit auch die Anfärbbarkeit des Keratins veränderte. Aus der Literatur (HARMS 1965; SMITH 1958; ZAHN 1950) ist andererseits bekannt, daß die ohnehin recht heterogen aufgebauten Keratine von Trypsin nur bedingt angegriffen werden. Es wurde daher versucht, durch höhere Konzentration und längere Einwirkung der Farbstoffe eine selektive Darstellung zu bewirken. Nach Abschluß der Vorversuche konnten die auf dem Membranfilter angesammelten Haar- und Federpartikel mit folgenden Modifikationen der DÖRING'schen Färbeanweisung spezifisch angefärbt werden, wobei wegen der eingesetzten organischen Lösungsmittel unter einem Abzug gearbeitet werden mußte:

1. Das Filter wurde mit 10 ml HCl (pH 2) belegt.
2. Anschließend erfolgte der Zusatz von 0.8 ml N-Cetyl-N,N,N-Trimethylammoniumbromid und 4 ml Remazolbrillantblau R . Die Farbstofflösung wurde vorsichtig umgeschüttelt. Es trat eine Blaufärbung des flüssigen Mediums ein.
3. Das Filtrationsgefäß wurde im "Transportgestell" 30 min in einem Trockenschrank bei 80°C inkubiert.
4. Danach wurde die Färbeflüssigkeit auf etwa das Doppelte des Volumens mit Aqua dest. verdünnt, mit 5 ml Pyridinlösung versetzt, vorsichtig umgeschüttelt und dann abgesaugt.
5. Mit ca. 5 ml Pyridinlösung wurde der überflüssige Farbstoff bei Absaugstellung ausgewaschen und anschließend das Filter mit Aqua dest. nachgespült.

Das Membranfilter wurde anschließend ausreichend getrocknet und mit 0.5 ml des Lösungsmittelgemisches auf dem Diaglas transparent gemacht (vgl. 3.2.4.1.3).

3.2.4.2.3 Mikroskopische Auswertung

Die Mikroskopiertechnik und quantitative Erfassung der als Haar- und Federfragmente identifizierten Partikel glich der unter 3.2.4.1.4 für Insektenpartikel beschriebenen Vorgehensweise. Die kleinen Haare und Federbartstrahlen erschienen im mikroskopischen Bild zart- bis leuchtendblau neben ungefärbten, eiweißhaltigen Bestandteilen.

3.2.4.3 Färberischer Nachweis von Eischalenresten

Die selektive Darstellung der Schalenfragmente in Eiklar und Vollei gelang durch Imprägnierung der in der Eischale eingelagerten anorganischen Kalziumsalze mit Silbernitrat. Durch die Lichteinwirkung entsteht aus Silbernitrat Silberphosphat, das dann zu schwarzem kristallinen Silber reduziert wird (KOSSA 1901).

3.2.4.3.1 Probenaufbereitung

Größere Schalenfragmente wurden in einem Porzellanmörser mittels Pistill zu einem feinkörnigen Pulver zermahlen. Zu 10 ml des Probenhomogenisats wurde eine Spatelspitze des feinkörnigen und kalkreichen Pulvers gegeben. Die Probenaufbereitung selbst erfolgte - wie in 3.2.4.1.2 angegeben - mit Trypsinlösung und Phosphatpuffer.

3.2.4.3.2 Filtration, Färbung mit Silbernitrat und Transparenz

a. Reagenzien und Materialien:
   - Silbernitratlösung (5%ig): 5 g Silbernitrat (MG 169.87) wurden in 100 ml Aqua dest. gelöst.
   - Pyrogallollösung (1%ig in Alkohol): 1 g Pyrogallol krist.

DAB 6 (MERCK, Art.-Nr. 611) wurden in 100 ml 96%igem Alkohol gelöst.

- Ilfospeed® : Fotofixiermittel der Firma ILFORD, Neu Isenburg
- "Dunkelkammer": Belichtungssystem (60 W Glühbirne) und Karton.

b. Membranfiltersystem: vgl. 3.2.4.1.3

Da die auf dem Filter angesammelten (zur Filtrationstechnik vgl. 3.2.4.1.3) Eischalenpartikel substantiell einheitlich dargestellt werden sollten, bot sich von den verfügbaren Färbemethoden zum Kalknachweis die Methode nach KOSSA (1901) wegen ihrer weiten Verbreitung in der Histologie an. In Anlehnung an diese Methode wurde das Filter für 15 min im Dunkeln mit 10 ml 5%iger Silbernitratlösung belegt. Danach wurde die Färbeflüssigkeit abgesaugt und das Filter mit Aqua dest. ausgewaschen. Nachdem der Absaugweg wieder unterbrochen war, wurde das Filter 5 min in 10 ml 1%iger Pyrogallussäurelösung entwickelt. Die Entwicklungslösung wurde abgesaugt und das Filter mit Aqua dest. ausgespült. Zum Schluß mußte das Filter im wieder geschlossenen Filtrationssystem noch 3 bis 5 min in 10 ml 5%iger Fixiernatronlösung fixiert und dann sorgfältig mit Aqua dest. ausgewaschen werden.

Die Eignung der KOSSA-Färbung zur einwandfreien Identifizierung von Eischalenresten wurde im mikroskopischen Bild überprüft, nachdem das Filter getrocknet und transparent (vgl. 3.2.4.1.3) gemacht worden war. Zwar stellte sich die Mehrzahl der Partikel einheitlich schwarz dar, jedoch wies der eiweißhaltige Hintergrund dunkelbraune bis schwarze Partien auf, so daß die farbliche Differenzierung nicht eindeutig ausfiel. Hieraus resultierte die Notwendigkeit, eine Gegenfärbung anzuwenden oder, was arbeitstechnisch einfacher erschien, bei Erhaltung der charakteristischen Schwarzfärbung der Eischalenreste den Hintergrund zu entfärben. Bei dem Versuch, für die fernsehtechnische Auswertung histologischer Präparate von Fleischerzeugnissen Knochenpartikel mit Hilfe der KOSSA-Fär-

bung selektiv zu erfassen, stieß KÖNIGSMANN (1978) auf vergleichbare Schwierigkeiten. Als Ausweg entwickelte er eine Färbeanweisung, die sich im wesentlichen durch Verwendung alkoholischer Pyrogallollösung statt Pyrogallussäurelösung, Differenzierung in Kaliumpermanganat und Fixieren mit Ilfospeed® von der ursprünglichen Rezeptur unterschied. Das Verfahren wurde als Standardmethode in die amtliche Sammlung § 35 LMBG aufgenommen. Es gelang, diese Färbeanweisung trotz der durch die Vakuumfiltrationstechnik geänderten Verhältnisse auch auf Eiprodukte zu übertragen und die auf dem Membranfilter befindlichen Schalenpartikel selektiv wie folgt anzufärben:

1. Das Filter wurde mit 10 ml Silbernitratlösung überschichtet und 10 min in der "Dunkelkammer" belichtet. Danach wurde die Farbstofflösung abgesaugt und das Filter kurz mit Aqua dest. nachgespült.
2. Bei geschlossenem Absaugweg wurde das Filter dann 4 min in 10 ml Pyrogallollösung entwickelt. Die Entwicklungslösung wurde dann abgesaugt und das Filter wieder kurz mit Aqua dest. gespült.
3. Es folgte ein 6-minütiges Differenzieren in 10 ml Kaliumpermanganatlösung, wozu das Filtrationsgefäß durch Umlegen des Umschalthebels wieder ablaufsicher gemacht werden mußte. Nachdem diese Lösung abgesaugt war, wurde das Filter solange mit Aqua dest. ausgewaschen, bis das ablaufende Wasser klar erschien.
4. Zum Abschluß mußte das Filter nach Unterbrechen des Absaugweges noch 15 min in 10 ml Ilfospeed® fixiert werden. Nach Absaugen der Fixierflüssigkeit wurde das Filter mit reichlich Leitungswasser ausgespült.

Das Membranfilter wurde anschließend ausreichend getrocknet und mit 0.5 ml des Lösungsmittelgemisches auf dem Dia-Glas transparent gemacht (vgl. 3.2.4.1.3).

3.2.4.3.3 Mikroskopische Auswertung

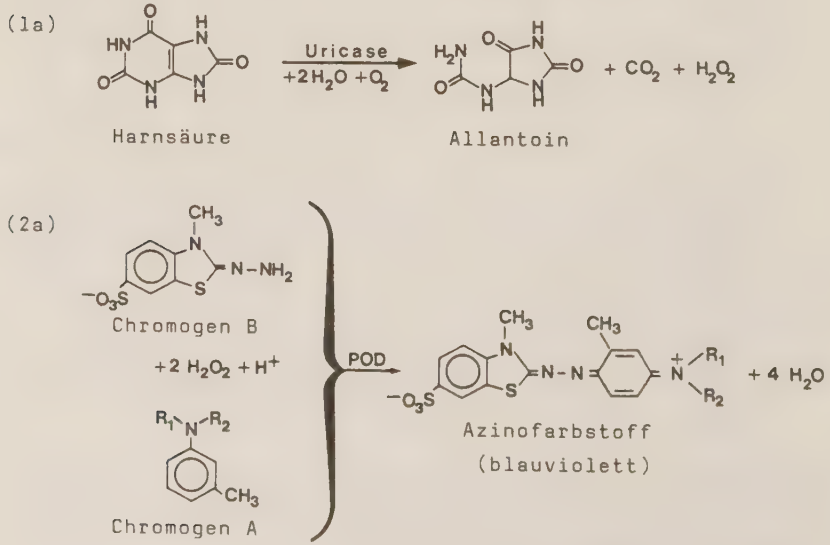
Im mikroskopischen Bild konnten die Eischalenreste aufgrund ihrer tiefschwarzen Anfärbung von gelblich-weißen, eiweißhaltigen Bestandteilen differenziert werden. Die quantitative Auswertung erfolgte nach den gleichen Kriterien wie beim Nachweis von Insekten- und Federnpartikeln (vgl. 3.2.4.1.4).

3.2.5 Harnsäurebestimmung

3.2.5.1 Prinzip

Der enzymatische Nachweis von Harnsäure beruht auf folgenden Teilschritten (Abb. 4):

Abbildung 4: Darstellung des Reaktionsprinzips



(nach BOEHRINGER Mannheim 1981)

1. Spaltung von Harnsäure durch das Enzym Uricase zu Allantoin, Kohlendioxid und Wasserstoffperoxid.

2. Bildung eines blauvioletten Azinofarbstoffes aus den beiden Komponenten Chromogen A (N-Ethyl-N-ß-hydroxy-ethyl-m-toluidin) und Chromogen B (2-Hydrazono-2,3-dihydro-3-methyl-6-sulfobenzothiazol) unter Umsetzung des Wasserstoffperoxids mittels Peroxidase (POD) zu Wasser.

Für diese beiden miteinander gekoppelten Reaktionen ist Schritt 1 der geschwindigkeitsbestimmende, wobei die Intensität des gebildeten Farbstoffs ein direktes Maß für die vorhandene Harnsäurekonzentration darstellt.
Die Farbstoffmessung erfolgt spektralphotometrisch bei einer Wellenlänge von 590 nm (BOEHRINGER Mannheim 1981).

3.2.5.2 Bestimmung der Eichgeraden

Alle zur Erstellung der Eichkurve benötigten Reagenzien sind im CBR-Programm Harnsäure der Firma BOEHRINGER Mannheim (Best.-Nr. 556718 für 10x100 ml Reagenzlösung und Best.-Nr. 565245 für 4x10 Reagenztabletten) zusammengestellt. Dieses Nachweisverfahren findet Anwendung in der Humanmedizin. Es ist abgestimmt auf Serum-, Plasma- und Urinuntersuchungen gichtkranker bzw. -verdächtiger Menschen, also auf Harnsäurekonzentrationen von 2.4 - 7.0 mg HS/dl Serum (THEFELD 1973), während im Flüssigei je nach Produkt Gehalte von 0.3 mg HS/100 g bis 0.8 mg HS/100 g (IMURA und NONAMI 1972) zu erwarten sind. Da außerdem die Aufarbeitung des Flüssigeies bis zum meßbaren Filtrat einen großen Aufwand verlangte (vgl. 3.2.5.3.3 und 3.2.5.4.2), wurde der Reaktionsansatz entsprechend geändert und für die modifizierte Arbeitsanleitung eine Eichgerade bestimmt.

3.2.5.2.1 Reagenzien

a. Harnsäurestammlösung: 100 mg Harnsäure (MERCK, Art.-Nr. 817) wurden zusammen mit 80 mg Lithiumcarbonat (MERCK, Art.-Nr. 5680) in 100 ml Aqua bidest. gelöst (BERGMEYER 1974). Durch Verdünnen der Stammlösung mit Aqua bidest. wurden Harnsäurelösungen mit Gehalten von 0.1 - 2.0 mg/100 ml bzw. 1 - 20 µg/ml hergestellt.
b. Reagenzlösung: die Lösung enthält Chromogen A, Chromogen B, Uricase und Peroxidase und wurde nach der Vorschrift des CBR-Programms Harnsäure hergestellt. Im einzelnen besteht sie aus folgenden Bestandteilen:
   - Phosphatpuffer: 0.1 mol/l, pH 7.0
   - Fettalkoholglykolether: 0.3%
   - 3,4-Dichlorphenol: 3 mmol/l
   - Na-Cholat: 0.3%
   - Kaliumhexacyanoferrat (II): 0.05 mmol/l
   - N-Ethyl-N-ß-hydroxyethyl-m-toluidin: 0.4 mmol/l
   - 2-Hydrazono-2,3-dihydro-3-methyl-6-sulfobenzothiazol: 0.2 mmol/l
   - Uricase $\geq$ 0.1 U/ml
   - Peroxidase $\geq$ 0.01 U/ml

3.2.5.2.2 Meßansatz

Zu 1 ml der jeweiligen Harnsäurelösung wurden 10 ml Reagenzlösung pipettiert, beides gut durchmischt und zur vollständigen Umsetzung für 30 min bei 20 - 25°C inkubiert. Die Extinktion des gebildeten Azinofarbstoffs wurde mit dem Spektralphotometer PM Q II der Firma Carl ZEISS bei einer Wellenlänge von 590 nm in Glasküvetten mit einer Schichtdicke von 5.000 cm und -breite von 1.0 cm (Firma Carl ZEISS) bestimmt. Gemessen wurde gegen einen Reagenzienleerwert, bestehend aus 1 ml Aqua bidest. und 10 ml Reagenzlösung. Für jede Harnsäurekonzentration wurden fünf Parallelmessungen angesetzt.

Tabelle 5: Zusammenstellung der ermittelten Extinktionen für die jeweils fünffache Bestimmung verschiedener Harnsäurekonzentrationen

Harnsäure		$E_{590}^{5.000}$				
mg/100 ml	µg/ml	x_1	x_2	x_3	x_4	x_5
0.1	1	0.070	0.069	0.072	0.072	0.072
0.2	2	0.144	0.146	0.149	0.147	0.146
0.4	4	0.300	0.299	0.296	0.296	0.295
0.6	6	0.440	0.437	0.443	0.444	0.445
0.8	8	0.582	0.585	0.580	0.579	0.581
1.0	10	0.720	0.721	0.721	0.725	0.722
1.2	12	0.860	0.867	0.863	0.862	0.864
1.4	14	1.007	1.005	1.003	1.002	1.006
1.6	16	1.149	1.155	1.147	1.146	1.150
1.8	18	1.270	1.275	1.268	1.265	1.266
2.0	20	1.350	1.355	1.344	1.347	1.352

Tabelle 5 enthält eine Zusammenstellung der ermittelten Extinktionswerte und Abbildung 5 deren graphische Darstellung in Abhängigkeit von der Harnsäurekonzentration.

Gemäß Abb. 5 bestand für Harnsäuregehalte von 1 - 16 µg/Küvette ein linearer und zugleich sehr enger Zusammenhang zur gemessenen Extinktion. Die mit Hilfe der linearen Regression berechnete Geradengleichung für diesen Konzentrationsbereich lautete:

(3) $y = 0.0066 + 0.0716\ x$ x = Harnsäuregehalt in µg/Küvette

$r = 0.9998$ y = Extinktion

r = Korrelationskoeffizient

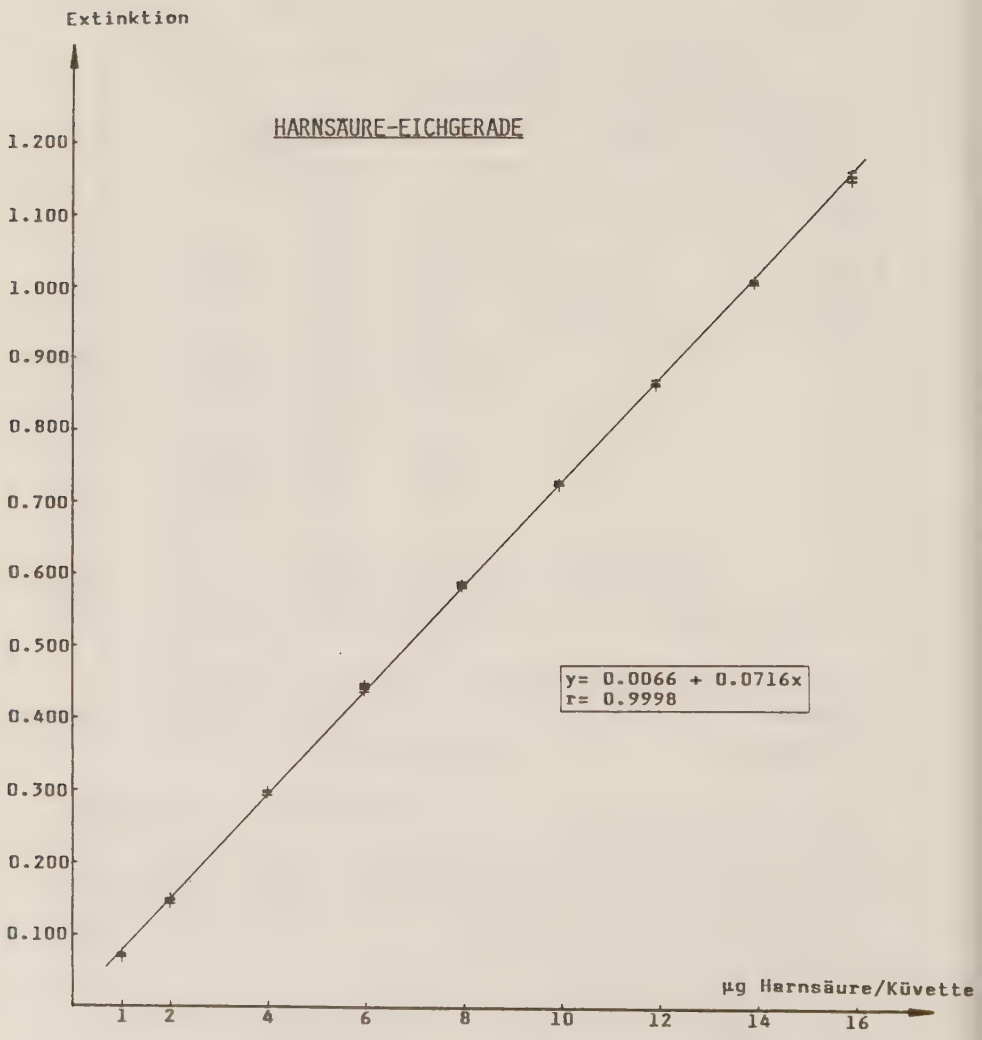


Abbildung 5: Darstellung der Eichgeraden für Harnsäure

Für Harnsäurekonzentrationen von 1 - 16 µg/Küvette ist das Lambert-Beer'sche Gesetz $E = \varepsilon \times c \times d$ mit ε = const. erfüllt. Somit kann für Extinktionswerte von 0.07 bis 1.15 der jeweilige Harnsäuregehalt/Küvette nach der Gleichung

(4) $$x = \frac{y - 0.0066}{0.0716}$$

x = Harnsäuregehalt in µg/Küvette
y = Extinktion

berechnet werden.

3.2.5.3 Harnsäurebestimmung in Flüssigeiklar

Nachdem sich erwiesen hatte, daß 1 - 16 µg Harnsäure/Küvette in Aqua bidest. als Substrat mit der enzymatischen Analyse nachzuweisen sind, mußte die Methode an flüssigen Eiprodukten überprüft werden.

3.2.5.3.1 Material

Als Probenmaterial diente von frischen Eiern (Güteklasse A) unter nichtsterilen Bedingungen gewonnenes Eiklar, das vor der Aufarbeitung in einem Homogenisiergefäß mit einem mechanischen Zerkleinerungsgerät ("Ultra-Turrax" Typ TP 18/2, Firma JAHNKE u. KUNKEL KG) bei ca. 5000 rpm max. 60 Sek. lang vorsichtig homogenisiert wurde. Die Lagerung zwischen den Versuchen erfolgte in 1-l-Bechergläsern, abgedeckt mit Aluminiumfolie, in einem auf 6°C eingestellten Kühlschrank.

3.2.5.3.2 Vorversuche zur Probenaufbereitung

a. Direktmessung:
Um den Harnsäuregehalt in der homogenisierten Probe zu messen, wurden zu jeweils 750 µl Flüssigeiweiß 2.5; 5; 12.5 und 25 µg Harnsäure - jeweils gelöst in 250 µl Aqua bidest. - zugesetzt. Pro Verdünnungsstufe wurden zwei Bestimmungen nach 3.2.5.2.2 durchgeführt. Zwischen den zugesetzten Harnsäurekonzentrationen und gemessenen Extinktionen bestand kein linearer Zusammenhang, so daß auf eine Enteiweißung offensichtlich nicht verzichtet werden konnte.

b. Eiweißfällung mit verdünnter Carrez-Lösung (I u. II):
Bei der Suche nach geeigneten Enteiweißungsmethoden fiel die Wahl zuerst auf verdünnte Carrez-Lösung (I u. II) (BOEHRINGER Mannheim 1980), da diese Fällungsreaktion den pH-Wert der Lebensmittelprobe nicht wesentlich verändert. Gerade weil die Eiklarproben auf den pH-Wert von 7.0, dem pH-Optimum der enzymatischen Gesamtreaktion eingestellt werden müssen, erschien eine Eiweißfällung mit pH-Konstanz im Bereich dieser Wasserstoffionenkonzentration von Vorteil. Nachdem zu je 10 g Flüssigeiklar 20; 40; 80 und 100 µg Harnsäure enthaltende wässrige Lösungen zugesetzt waren, wurden die Eiklarproteine mit Carrez-Lösung gefällt. Trotz zahlreicher Vorversuche, in denen Konzentrationen und Volumen der Carrez-Lösung variiert wurden und die Fällungsreaktionen durch Inkubation der Proben in einem Wasserbad von 80°C und scharfe Zentrifugation bis 20000 rpm unterstützt wurde, gelang es nicht, ein klares, photometrisch auswertbares Filtrat zu gewinnen.

c. Eiweißfällung mit Trichloressigsäure:
Nachdem 10.0 g der homogenisierten Probe in verschraubbare Zentrifugenbecher aus Kunststoff eingewogen waren und ihnen 20; 40; 60; 80 und 100 µg Harnsäure als wässrige Lösung zugegeben waren, wurden sie zur Eiweißfällung mit 4 ml

5%iger Trichloressigsäure (MERCK, Art.-Nr. 807) versetzt. Danach wurden die Proben 30 min in einem Wasserbad bei 80°C inkubiert und anschließend 15 min lang bei 4°C und 10000 rpm zentrifugiert (Sorvall-Zentrifuge, vgl. 3.2.5.3.3). Die Überstände wurden dekantiert und durch Selekta Faltenfilter (Nr. 593 1/2) in Reagenzgläser filtriert. Zu 4 ml dieses Filtrats wurde 1 ml Phosphatpuffer (vgl. 3.2.5.3.3) unter vorsichtiger Durchmischung der Proben pipettiert. Anschließend wurde der pH-Wert von 7.0 mit 3%iger bzw. 1%iger Natronlauge eingestellt. Die Temperatur der Filtrate wurde abschließend durch 15-minütige Inkubation im Wasserbad auf 25°C eingestellt. 2 ml des klaren, z.T. leicht gelb gefärbten Filtrats wurden gemäß 3.2.5.2.2 mit 10 ml Harnsäure-Reagenzlösung umgesetzt. Die ermittelten Extinktionswerte standen in linearer Beziehung zum Harnsäurezusatz.

Trotz befriedigender Meßergebnisse mußte der o.a. Aufbereitungsweg jedoch aus rein analysentechnischen Gründen verlassen werden, da die Trichloressigsäurefällung an die Benutzung verschraubbarer Zentrifugenbecher aus Kunststoff gebunden war. Nach mehrmaligem Gebrauch dieser Zentrifugenbecher zeigte sich, daß Eiweißkoagulatreste trotz gründlicher Reinigung nicht vollständig aus kleinen Poren und Rissen zu entfernen waren und zu abweichenden Meßergebnissen führten.

Metallene Zentrifugenbecher, mit Aluminiumfolie abgedeckt, erfüllten die an sie gestellten Anforderungen insofern nicht, als sie im Verlauf der 30-minütigen Wasserbadinkubation bei 80°C dem entstehenden Hitzedruck nicht standhielten, so daß sich Teile der Probe in das Wasserbad ergossen.

Zentrifugengläser aus Glas kamen wegen der hohen Umdrehungszahlen nicht zum Einsatz.

3.2.5.3.3 Eiweißfällung mit Perchlorsäure

a. Reagenzien:
- 60%ige Perchlorsäure: (MERCK, Art.-Nr. 718)
- Phosphatpuffer (0.1 m; pH 7.0): 13.206 g Diammoniumhydrogenphosphat (MERCK, Art.-Nr. 1207) wurden in 1000 ml Aqua bidest. gelöst und mit o-Phosphorsäure (d = 1.71, ca. 85%; MERCK, Art.-Nr. 563) auf pH 7.0 eingestellt (BERGMEYER 1974).
- 30%ige, 3%ige, 1%ige Natronlauge: 30 g, 3 g bzw. 1 g Natriumhydroxidplätzchen (MERCK, Art.-Nr. 6498) wurden jeweils in 100 ml Aqua bidest. gelöst.
- Selekta Faltenfilter Nr. 593 1/2, Ø 12.5 cm

Die Probenaufbereitung erfolgte in Anlehnung an PARRY et al. (1980) und umfaßte die folgenden Schritte:

1. 10.0 g des Probenhomogenisats wurden in metallene Zentrifugenbecher eingewogen und zur Eiweißfällung mit 4 ml Perchlorsäure versetzt.
2. Anschließend wurde 15 min lang bei 4°C und 10000 rpm zentrifugiert (Sorvall RC-5B Refrigerated Superspeed Centrifuge, Firma DUPONT INSTRUMENTS) und die Überstände durch Faltenfilter (Selekta, Nr. 593 1/2) in Reagenzgläser filtriert. 4 ml dieses Filtrats wurden in Zentrifugenspitzgläser pipettiert.
3. Es erfolgte ein Zusatz von 1 ml Phosphatpuffer unter vorsichtiger Durchmischung der Probe.
4. Der pH-Wert von 7.0 wurde mit 30%iger Natronlauge zunächst grob, dann mit 3%iger bzw. 1%iger Natronlauge exakt eingestellt (pH-Meter vgl. 3.2.2).
5. Die Proben wurden für ca. 30 min in ein Eisbad gestellt.
6. Zur Entfernung des bei der Kühlung ausgefallenen Natriumperchlorates wurde anschließend 15 min bei 3700 rpm zentrifugiert (Tischzentrifuge Universal 2S, Firma HETTICH) und die überstehende Lösung durch Faltenfilter (Selekta, Nr. 593 1/2) in Reagenzgläser filtriert.

7. Die Temperatur der Filtrate wurde durch 15-minütige Inkubation im Wasserbad auf 25°C eingestellt.
8. 2 ml des klaren Filtrats wurden nach 3.2.5.2.2 mit 10 ml Harnsäure-Reagenzlösung umgesetzt.
9. Die Messung erfolgte gegen einen Reagenzienleerwert, der außer der Reagenzlösung 2 ml Aqua bidest. enthielt.

3.2.5.3.4 Wiederfindungsrate

Zur Bestimmung der Wiederfindungsrate wurden den Eiklarproben definierte Harnsäuremengen zugesetzt, um sie dann gemäß der Anweisung zur Eiweißfällung mit Perchlorsäure (3.2.5.3.3) aufzuarbeiten.
Die Harnsäurestammlösung bestand aus 100 mg Harnsäure in 100 ml Aqua bidest.. Durch weiteres Verdünnen mit Aqua bidest. wurden fünf Harnsäurelösungen mit Gehalten von 2.0 - 10.0 mg/100 ml hergestellt. Jeweils 1 ml davon wurden den Eiklarproben zugesetzt und pro Verdünnungsansatz sechs Bestimmungen durchgeführt. Die Extinktionen der Eiklarproben mit Harnsäurezusatz ergaben sich aus der Differenz zu den Extinktionen von jeweils zwei Eiklarproben ohne Harnsäurezusatz (Blindwert).
Für die Berechnung des Harnsäuregehaltes in Flüssigeiklar wurde zwar die zur Harnsäurebestimmung in Aqua bidest. entwickelte Gleichung (3.2.5.2.2) zugrunde gelegt:

$$(4) \quad x = \frac{y - 0.0066}{0.0716}$$

x = Harnsäuregehalt (c) in µg/Küvette

y = Extinktion

es mußte jedoch ein anderer Verdünnungsfaktor F in die Formel eingehen, der sich aus folgenden Teilfaktoren zusammensetzte:

$$F = F_1 \times F_2 \times F_3 \times F_4$$

Hierbei sind $F_1 = 0.001$ (Umrechnung von µg auf mg)
$F_2 = 10$ (Umrechnung von 10 g auf 100 g Probe: 100 g:10 g = 10
$F_3 = 11.6$ (Verdünnungsfaktor durch Aufarbeitung:
(15 ml:4 ml)x(6.2 ml:2 ml)=11.6
$F_4 = 1.091$ (Volumenkorrektur der Meßlösung:
12 ml:11 ml = 1.091

Damit ergibt sich für F insgesamt:

$F = 0.001 \times 10 \times 1.091$
$= 0.127$

Aufgrund des Korrekturfaktors F resultierte aus Gleichung (4) für Harnsäure in flüssigem Eiklar folgende Formel:

(5) $c = \frac{y - 0.0066}{0.0716} \times F$

c = Harnsäuregehalt in mg/100 g flü. Eiklar
y = Extinktion

$= \frac{y - 0.0066}{0.0716} \times 0.127$ (mg HS/100 g)

Mit Hilfe dieser Formel wurde der in den Eiklarproben nachgewiesene Harnsäureanteil ermittelt und der eingesetzten Menge gegenübergestellt. Aus dem Vergleich der beiden korrespondierenden Werte ergab sich die Wiederfindungsrate.

Tabelle 6 zeigt die Zusammenstellung dieser Wiederfindungsraten einschließlich der Methodenstreuung und gibt zugleich den durchschnittlichen Harnsäuregehalt der Blindwerte (Eiklarproben ohne Harnsäurezusätze) an. Die Wiederfindungsrate für die verschiedenen Harnsäurezusätze schwankte beim Flüssigeiklar zwischen 89.5 und 97% und die Standardabweichung zwischen den jeweils sechsfachen Bestimmungen einer definierten Harnsäuremenge überschritt insgesamt nicht einen Wert von

Tabelle 6: Ermittlung der Wiederfindungsrate von Harnsäure in flüssigem Eiklar und Angabe der durchschnittlichen Harnsäurekonzentration der Blindwerte

vorgegebene Konzentration	ermittelter HS-Gehalt in mg/100 g flü. EW n = 6		Wiederfindungsrate	ermittelter HS-Gehalt für die Blindwerte in mg/100 g n = 2
(mg/100 g)	$\bar{x} \pm s$	V(%)	(%)	$\bar{x} \pm s$
0.2	0.179 ± 0.025	14.0	89.5	0.921 ± 0.016
0.4	0.383 ± 0.018	4.7	95.7	1.080 ± 0.032
0.6	0.577 ± 0.027	4.7	96.1	1.045 ± 0.040
0.8	0.754 ± 0.027	3.6	94.2	1.012 ± 0.029
1.0	0.966 ± 0.034	3.5	96.6	0.853 ± 0.010

0.034 mg HS/100 g. Der hieraus errechnete Variationskoeffizient lag bis auf eine Ausnahme zwischen 3.5 und 5%.

Nach Tabelle 6 betrug der Harnsäuregehalt der Blindwerte (Eiklarproben ohne Harnsäurezusatz) 0.853 bzw. 1.080 mg HS/100 g flüssiges Eiklar mit einer Standardabweichung von nicht mehr als 0.04 mg HS/100 g pro Ansatz.

3.2.5.4 Harnsäurebestimmung in Flüssigvollei

3.2.5.4.1 Material

Als Probenmaterial diente von frischen Eiern (Güteklasse A) unter nichtsterilen Bedingungen gewonnenes Vollei, das mit dem "Ultra-Turrax" homogenisiert und bei 6°C gelagert (vgl. 3.2.5.3.1) worden war.

3.2.5.4.2 Eiweißfällung mit Perchlorsäure

Die Aufarbeitung des Volleies unterschied sich nur geringfügig von der in Kapitel 3.2.5.3.3 für Eiklar beschriebenen Methode, indem statt 4 ml Filtrat lediglich 2 ml weiterverarbeitet werden konnten. Weiterhin fiel nach der Kühlung der Volleiproben im Eisbad außer Natriumperchlorat auch Fett aus. Letztlich ließen sich zur Umsetzung mit 10 ml Harnsäure-Reagenzlösung gemäß 3.2.5.2.2 an Stelle von 2 ml nur 1 ml klares Filtrat gewinnen.

3.2.5.4.3 Wiederfindungsrate

Analog zum Eiklar (vgl. 3.2.5.3.4) wurden den Volleiproben zur Bestimmung der Wiederfindungsrate definierte Harnsäuremengen zugesetzt, indem eine Harnsäurestammlösung aus 100 mg HS/100 ml durch Verdünnen mit Aqua bidest. in drei Harnsäurelösungen mit Gehalten von 2.0; 6.0 und 10.0 mg/100 ml untergliedert wurde. Jeweils 1 ml dieser drei verschiedenen Harnsäurekonzentrationen wurden den Volleiproben zugesetzt und pro Verdünnungsansatz wurden sechs Bestimmungen durchgeführt. Die Extinktionen der Volleiproben mit Harnsäurezusatz wurden als Differenz zu den Extinktionen von jeweils zwei Volleiproben ohne Harnsäurezusatz (Blindwert) ermittelt. Um den Harnsäuregehalt in Flüssigvollei anhand der Extinktionen bestimmen zu können, mußte in die unter 3.2.5.2.2 angeführte Gleichung:

$$(4)\quad x = \frac{y - 0.0066}{0.0716}$$

x = Harnsäuregehalt (c') in µg/Küvette

y = Extinktion

wiederum ein Verdünnungsfaktor F' eingehen, der sich aus folgenden Teilfaktoren zusammensetzte:

$$F' = F_1 \times F_2 \times F_3'$$

Hierbei sind $F_1 = 0.001$ (Umrechnung von µg auf mg)
$F_2 = 10$ (Umrechnung von 10 g auf 100 g Probe: 100 g:10 g = 10
$F_3' = 28.5$ (Verdünnungsfaktor durch Aufarbeitung:
(15 ml:2 ml) x (3.8 ml:1 ml)=28.5

Damit ergibt sich für F' insgesamt:

$F' = 0.001 \times 10 \times 28.5$
$= 0.285$

Die Gleichung zur Berechnung von
Harnsäure in flüssigem Vollei lautet demnach:

(6) $c' = \frac{y - 0.0066}{0.0716} \times F'$

c' = Harnsäuregehalt in mg/100 g flü. Vollei

y = Extinktion

$= \frac{y - 0.0066}{0.0716} \times 0.285$ (mg HS/100 g)

Tabelle 7 enthält die Zusammenstellung der Wiederfindungsrate von Harnsäure in flüssigem Vollei und gibt außerdem die durchschnittliche Harnsäurekonzentration der Blindwerte (Volleiproben ohne Harnsäurezusatz) an. Wie sich Tabelle 7 weiterhin entnehmen läßt, lag die Wiederfindungsrate für die verschiedenen Harnsäurezusätze beim Flüssigvollei in einer Größenordnung von 93%, wobei die Standardabweichung insgesamt nicht einen Wert von 0.07 mg HS/100 g überschritt und der Variationskoeffizient bis auf eine Ausnahme ca. 8% betrug.

Der durchschnittliche Harnsäuregehalt der Volleiproben ohne Harnsäurezusatz (Blindwerte) bewegte sich zwischen 0.907 und 1.246 mg/100 g mit einer maximalen Standardabweichung von 0.05 mg HS/100 g.

Tabelle 7: Ermittlung der Wiederfindungsrate von Harnsäure in flüssigem Vollei und Angabe der durchschnittlichen Harnsäurekonzentration der Blindwerte

vorgegebene Konzentration	ermittelter HS-Gehalt in mg/100 g flü. VE n = 6		Wiederfindungsrate	ermittelter HS-Gehalt für die Blindwerte in mg/100 g n = 2
(mg/100 g)	$\bar{x}$ ± s	V(%)	(%)	$\bar{x}$ ± s
0.2	0.188 ± 0.020	10.6	93.8	0.907 ± 0.051
0.6	0.566 ± 0.049	8.6	94.3	1.126 ± 0.001
1.0	0.928 ± 0.070	7.5	92.8	1.246 ± 0.012

3.3 Untersuchungsergebnisse

Neben der Darstellung und Schilderung der Untersuchungsergebnisse im folgenden Abschnitt sind die Daten in ihrer Gesamtheit tabellarisch im Anhang zusammengestellt.

3.3.1 Einzeluntersuchung der im Frühjahr und Sommer entnommenen Flüssigeiprodukte des Handels

3.3.1.1 Keimstatus

Sämtliche Keimzahlen beziehen sich auf 1 Gramm des Untersuchungsmaterials und sind in den Tabellen 8 bis 10 und den Abbildungen 6 bis 10 als dekadische Logarithmen angegeben. Die Säulenprofile für die verschiedenen Chargen in den Abbildungen 6 bis 10 basieren auf den jeweiligen arithmetischen Mittelwerten der nachgewiesenen Keimarten. Ebenso wie in Tabelle 8 und 9 sind stets die Standardabweichungen mit angeführt. Die errechneten Medianwerte unterscheiden sich nur geringfügig vom korrespondierenden arithmetischen Mittel und sind in einer eigenen Tabelle (Tab. 10) zusammengestellt. Als Einflußfaktoren gehen die Art des Eiproduktes, seine Herkunft sowie die Jahreszeit stets in die Auswertung ein.

Gesamtkeimzahl: Bei der Gesamtkeimzahl lassen sich eine Abhängigkeit von der Produktgruppe, dem Hersteller sowie dem Zeitpunkt der Entnahme erkennen.
So zeichnen sich Eiklarproben gegenüber dem Flüssigvollei durch stets geringere Keimdichten aus. Aufgeschlüsselt nach ihrer Herkunft bewegen sich die Gesamtkeimzahlen des Eiklars zwischen 10^2/g (Hersteller A, Frühjahrsproben; Tab. 8, Abb. 6) und 10^6/g (Herkunft B, Sommerproben; Tab. 8, Abb. 7), während beim Flüssigvollei Werte zwischen 10^2 bis 10^3 Keime/g (A, Frühjahr; Tab. 9, Abb. 8) und 10^8 Keime/g (B, Sommer; Tab. 9, Abb. 9) zu finden sind.

Im Hinblick auf die Produktionsstätte schneidet Herkunft A immer besser als Herkunft B ab, wobei sich die Unterschiede im Sommer etwas vermindern. Eine hohe Gesamtkeimbelastung besitzen auch die Produkte der Firma C (Tab. 9, Abb. 10) mit 10^8 Keimen/g.

Beim Vergleich der Keimzahlen innerhalb eines Betriebes ergibt sich für beide Eiprodukte eine Abhängigkeit vom Entnahmezeitpunkt (Frühjahr oder Sommer, Abb. 6 bis 9), wobei die Werte um eine bis drei Zehnerpotenzen differieren. Die Diskrepanz zwischen den zwei Jahreszeiten ist beim relativ keimarmen Produkt A stärker ausgeprägt als beim höher kontaminierten Material B.

Laktobazillen: Wie aus Tabelle 8 bis 10 und Abbildung 6 bis 10 hervorgeht, gehören die Laktobazillen bei beiden Produkten stets zur dominierenden Flora. Bis auf eine Ausnahme (Vollei, A, Sommer; Tab. 9, Abb. 8) liegen ihre Keimzahlen nur um eine Zehnerpotenz niedriger als die der Gesamtkeimzahl und sie zeigen damit fast ebenso deutlich den Einfluß der Produktgruppe, seiner Herkunft sowie der Jahreszeit an.

Enterobakteriazeen, Coliforme und Enterokokken:
Die Besprechung der Enterobakteriazeen und Coliformen einerseits sowie der Enterokokken andererseits erfolgt gemeinsam, da beide unter dem Begriff der Fäkalindikatoren zusammengefaßt werden.
Nach Tabelle 8 bis 10 und Abbildung 6 bis 10 machen für die zwei Eiprodukte die Enterobakteriazeen, welche sich zu durchschnittlich 77.3% aus Coliformen zusammensetzen, einen großen Anteil der Keimflora aus. Analog zur Gesamtbelastung besitzen die Enterobakteriazeen bei den Volleiproben des Sommers (Herkunft B und C; Tab. 9 und 10, Abb. 9 und 10) mit 10^7 Keimen/g auffällig hohe Werte, während die Ergebnisse beim Flüssigeiklar des Herstellers A im Frühjahr (Tab. 8, Abb. 6) knapp über der Nachweisgrenze von 10^1 Enterobakteriazeen/g liegen. Entsprechendes gilt für die Coliformenzahlen, nur daß

sie in der Regel um eine Zehnerpotenz niedriger ausfallen bzw. beim Vollei der Firma A (Frühjahr; Tab. 9, Abb. 8) die Nachweisgrenze nicht überschreiten. Im wesentlichen bestätigen die Enterobakteriazeen damit die bereits bei den Gesamtkeimzahlen und Laktobazillen aufgezeigten Abhängigkeiten.

Bedeutende Enterokokkenzahlen finden sich mit max. 10^4 Keimen/g lediglich beim Flüssigeiklar (Frühjahr; Tab. 8, Abb. 7) und -vollei (Sommer; Tab. 9, Abb. 9) des Herstellers B, während sie bei den Produkten der Firma A nicht einmal die Nachweisgrenze erreichen. In einem Fall steigt die Enterokokkendichte bei Hersteller C sogar auf fast 10^6 Keime/g Material an.

Mikrokokken: Ebenso wie bei den Enterokokken läßt sich auch bei den Mikrokokken keine eindeutige Beziehung zwischen Entnahmezeitpunkt und Keimgehalt herstellen. Lediglich das Sommervollei des Herstellers B (Tab. 9 und 10, Abb. 9) weist mit 10^4 Keimen/g um eine Zehnerpotenz höhere Werte als die der Frühjahrsproben auf. Bei allen vergleichbaren Proben (Abb. 6 bis 8) ist mit fortschreitender Jahreszeit sogar eher ein Abfall festzustellen. Dabei schwankt der Keimgehalt zwischen Zahlen knapp über der Nachweisgrenze von 10^1 Keimen/g einerseits und 10^3 Keimen/g andererseits. Entsprechend geringe Abweichungen bestehen zwischen den Keimzahlen der Volleiproben und denen des Eiklars, die max. 10^2 Keime/g betragen. Eigelbpositive Staphylokokken sind in keinem Fall nachzuweisen.

Pseudomonaden: Die Pseudomonaden stellen bei den Flüssigeiproben des Herstellers B (Tab. 8 und 9, Abb. 7 und 9) und der Firma C (Tab. 9, Abb. 10) eine bedeutende Florakomponente dar. Hier erreichen die Sommerproben - je nach Produkt - Werte zwischen 10^4 und 10^7 Keime/g, während die Zahlen für die Eiprodukte des Herstellers A (Tab. 8 bis 10, Abb. 6 und 8) im Schnitt unter 10^4 Keimen/g liegen. Insgesamt gesehen werden auch bei dieser Keimgruppe die für Laktobazillen und die

Tabelle 8: Gegenüberstellung der im Frühjahr (10°C) und Sommer (27°C) ermittelten Keimzahlen für Flüssigeiklar (Herkunft A und B)

	FLÜSSIGEIKLAR			
	Herkunft: A		Herkunft: B	
	Frühjahrsproben mit n = 5	Sommerproben mit n = 6	Frühjahrsproben mit n = 5	Sommerproben mit n = 26
	$\bar{x} \pm s$	$\bar{x} \pm s$	$\bar{x} \pm s$	$\bar{x} \pm s$
Gesamtkeimzahl	2.57 ±0.14	4.40 ±0.48	5.68 ±0.23	6.48 ±0.24
Enterobakteriazeen	1.70 ±0.54	3.46 ±0.12	5.37 ±0.63	5.52 ±0.32
Coliforme	1.16 ±0.23	2.46 ±0.16	4.36 ±0.45	5.04 ±0.34
Mikrokokken	1.74 ±0.76	1.42 ±0.46	2.34 ±0.46	2.08 ±0.15
Enterokokken	1.00	1.00	4.15 ±0.37	3.23 ±1.01
Laktobazillen	1.88 ±0.36	3.26 ±0.61	4.98 ±0.08	5.82 ±0.46
Pseudomonaden	1.00	3.36 ±0.21	4.82 ±0.10	4.79 ±0.82

Arithmet. Mittelwerte und Standardabweichung der logarithmierten Keimzahlen pro 1 g Probenmaterial

untere Nachweisgrenze: 1.00 (Herkunft: A) bzw. 2.00 (Herkunft: B)

Tabelle 9: Gegenüberstellung der im Frühjahr (10°C), Frühsommer (15°C) und Sommer (27°C) ermittelten Keimzahlen für Flüssigvollei (Herkunft A, B und C)

	FLÜSSIGVOLLEI				
	Herkunft: A		Herkunft: B		Herkunft: C
	Frühjahrs-proben mit n = 5	Sommer-proben mit n = 3	Frühjahrs-proben mit n = 5	Sommer-proben mit n = 14	Frühsommer-proben mit n = 7
	$\bar{x} \pm s$	$\bar{x} \pm s$	$\bar{x} \pm s$	$\bar{x} \pm s$	$\bar{x} \pm s$
Gesamtkeimzahl	2.78 ±0.19	5.23 ±0.34	6.86 ±0.29	8.28 ±0.43	8.39 ±0.33
Enterobakteriazeen	1.83 ±0.80	3.69 ±0.78	6.44 ±0.49	7.39 ±0.60	7.40 ±0.45
Coliforme	1.00	2.44 ±0.20	5.86 ±0.52	6.68 ±0.55	6.05 ±1.12
Mikrokokken	2.37 ±0.08	1.56 ±0.54	3.72 ±0.25	4.30 ±0.69	3.27 ±0.80
Enterokokken	1.00	1.00	3.18 ±0.43	4.94 ±0.52	2.99 ±1.39
Laktobazillen	1.79 ±0.14	3.74 ±1.09	6.41 ±0.46	7.59 ±0.57	7.55 ±0.53
Pseudomonaden	1.00	3.91 ±0.51	6.13 ±0.44	7.25 ±0.68	7.94 ±0.10

Arithmet. Mittelwerte und Standardabweichung der logarithmierten Keimzahlen pro 1 g Probenmaterial

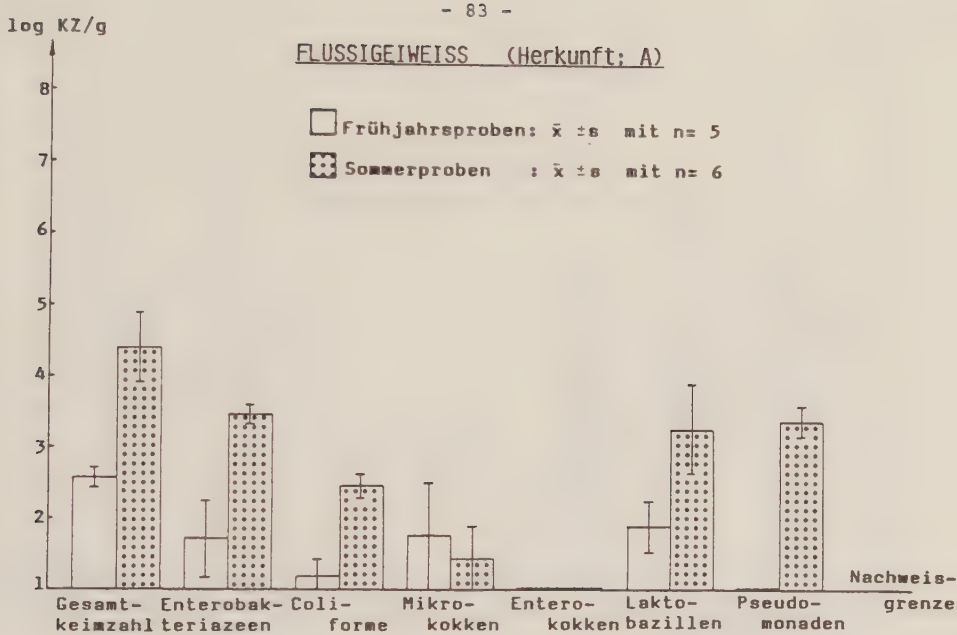
untere Nachweisgrenze: 1.00 (Herkunft: A) bzw. 2.00 (Herkunft: B und C)

Tabelle 10: Zusammenstellung aller ermittelten Keimzahlen für Flüssigeiklar (Herkunft A und B) und Flüssigvollei (Herkunft A, B und C)

	FLÜSSIGEIKLAR				FLÜSSIGVOLLEI				
	Herkunft: A		Herkunft: B		Herkunft: A		Herkunft: B		Herkunft: C
	Frühjahrsproben (10°C) mit n = 5	Sommerproben (27°C) mit n = 6	Frühjahrsproben (10°C) mit n = 5	Sommerproben (27°C) mit n = 26	Frühjahrsproben (10°C) mit n = 5	Sommerproben (27°C) mit n = 3	Frühjahrsproben (10°C) mit n = 5	Sommerproben (27°C) mit n = 14	Frühsommerproben (15°C) mit n = 7
Gesamtkeimzahl	2.62	4.59	5.75	6.51	2.81	5.08	6.95	8.30	8.45
Enterobakteriazeen	1.78	3.48	4.97	5.53	2.19	3.34	6.64	7.45	7.26
Coliforme	1.30	2.45	4.20	5.04	1.00	2.41	5.91	6.62	6.30
Mikrokokken	2.05	1.80	2.78	2.26	2.38	1.60	3.82	4.30	3.08
Enterokokken	1.00	1.00	4.20	3.78	1.00	1.00	3.08	4.64	3.26
Laktobazillen	1.89	3.44	4.98	5.88	1.78	3.15	6.50	7.83	7.64
Pseudomonaden	1.00	3.38	4.82	4.98	1.00	3.78	6.15	7.30	7.92

Medianwerte der logarithmierten Keimzahlen pro 1 g Probenmaterial

untere Nachweisgrenze: 1.00 (Herkunft: A) bzw. 2.00 (Herkunft: B und C)



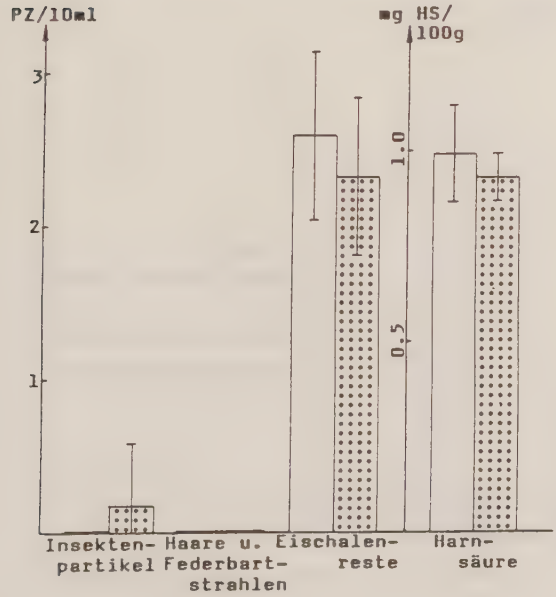
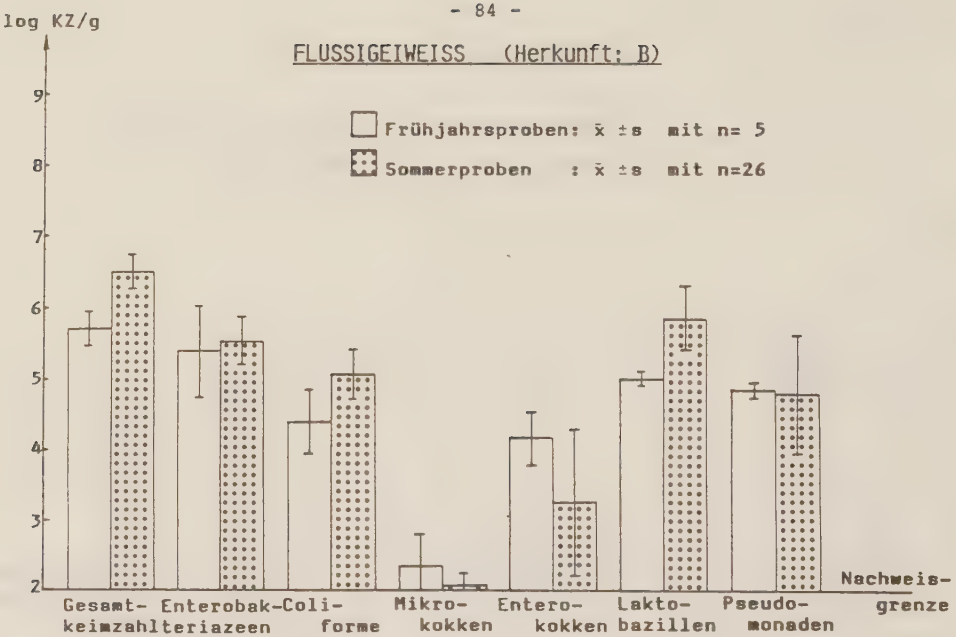


Abbildung 6:
Zusammenfassende Darstellung des Keim-, Filth- und Harnsäuregehaltes von Flüssigeiweiß (Herkunft: A)



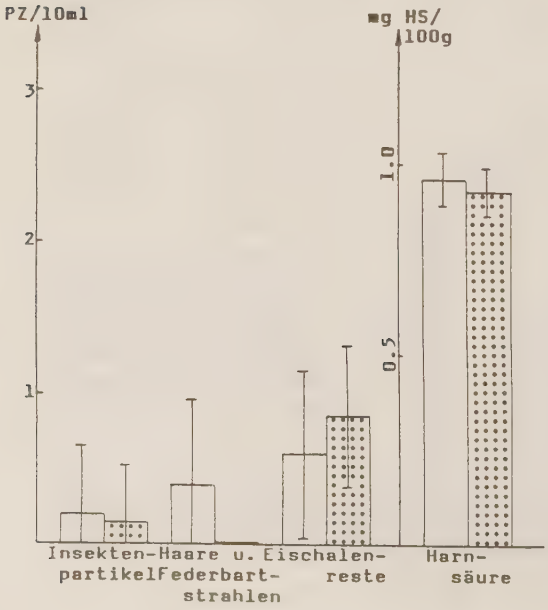
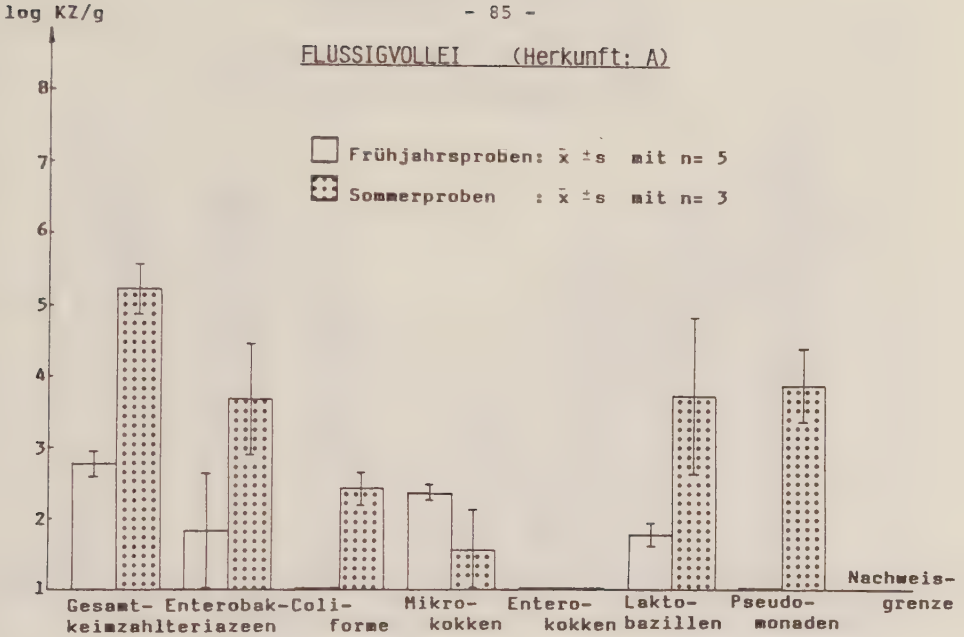


Abbildung 7:
Zusammenfassende Darstellung des Keim-, Filth- und Harnsäuregehaltes von Flüssigeiweiß (Herkunft: B)



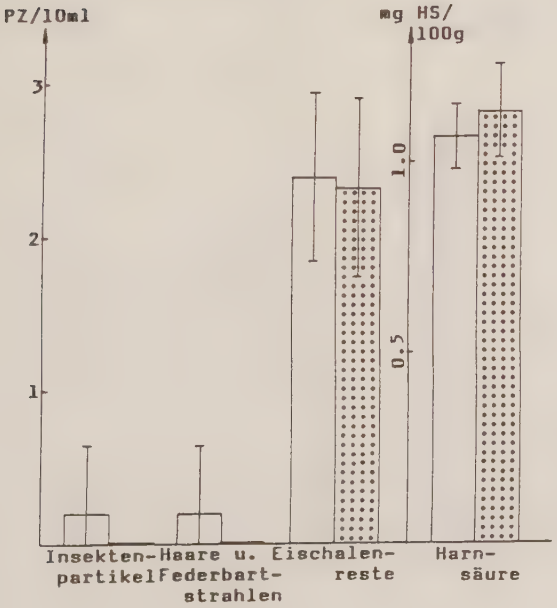
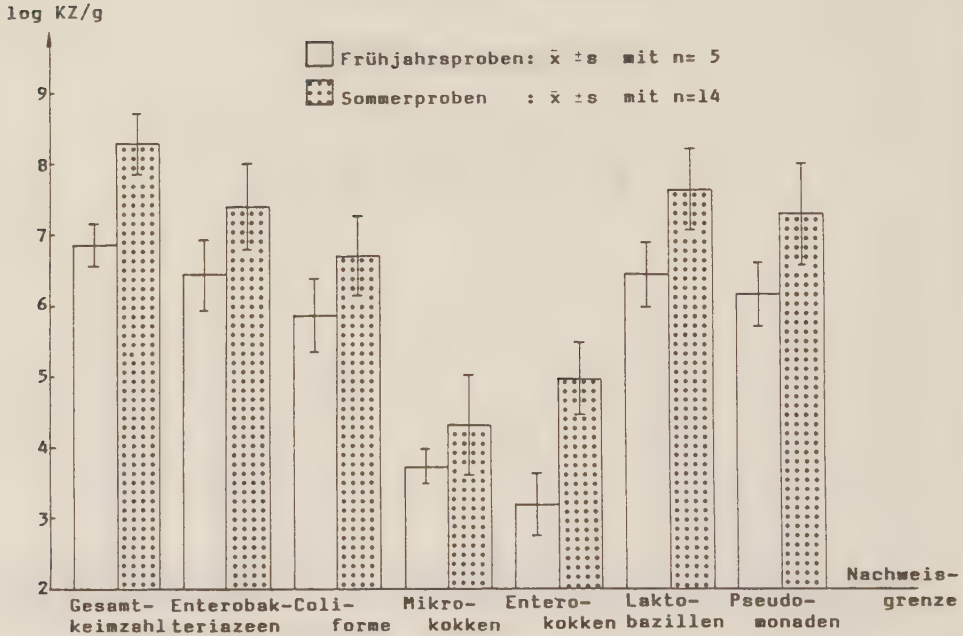


Abbildung 8:
Zusammenfassende Darstellung des Keim-, Filth- und Harnsäuregehaltes von Flüssigvollei (Herkunft: A)

FLÜSSIGVOLLEI (Herkunft: B)



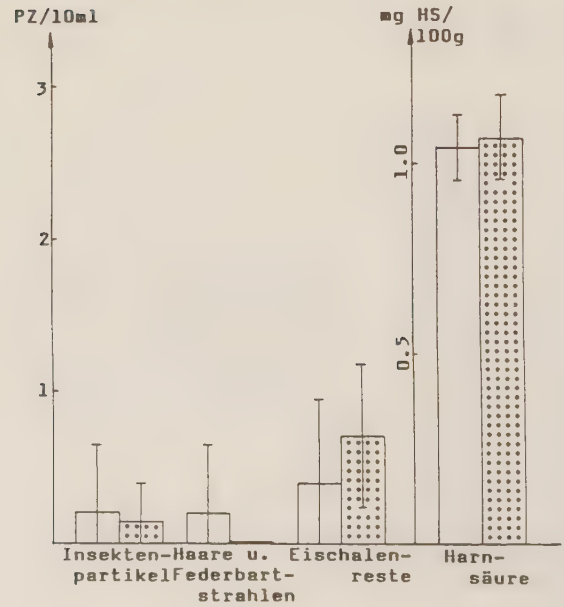
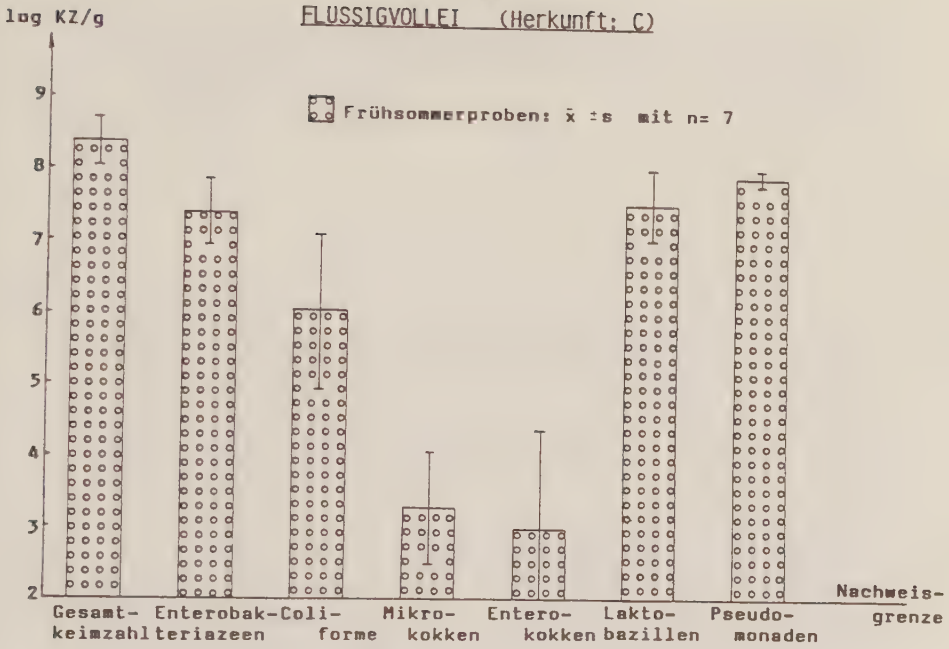


Abbildung 9:
Zusammenfassende Darstellung des Keim-, Filth- und Harnsäuregehaltes von Flüssigvollei (Herkunft: B)



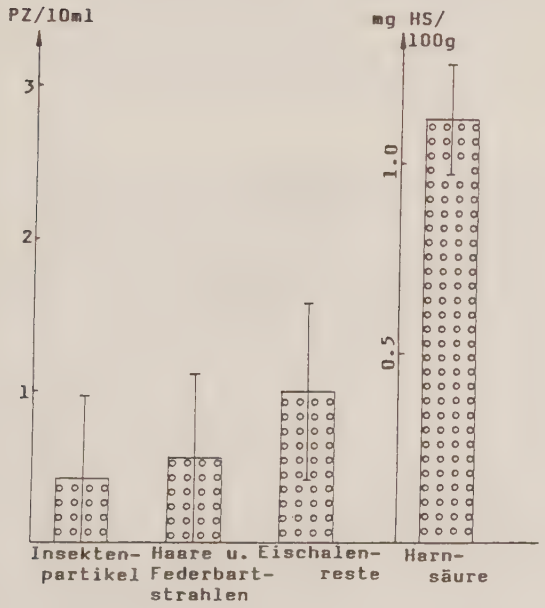


Abbildung 10:
Zusammenfassende Darstellung des Keim-, Filth- und Harnsäuregehaltes von Flüssigvollei (Herkunft: C)

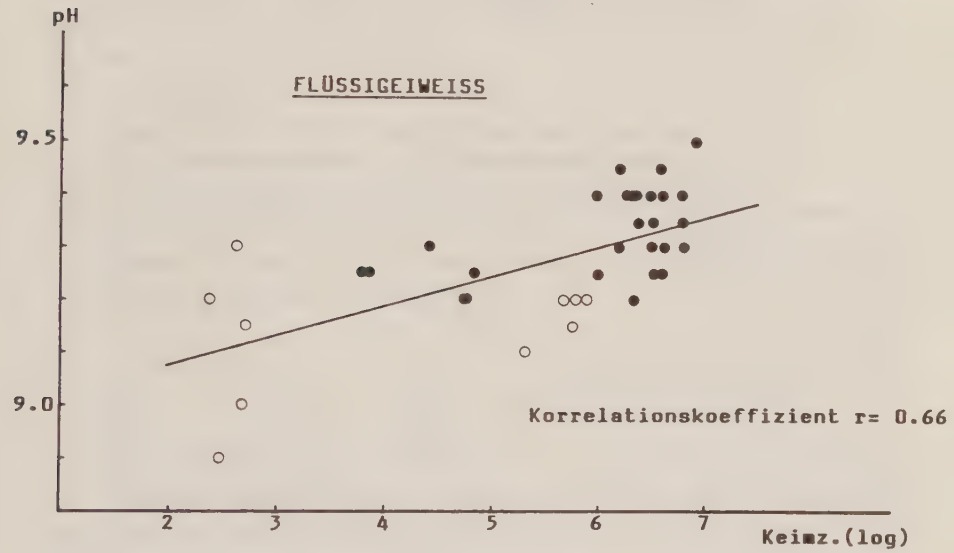
Gesamtkeimzahl aufgezeigten Abhängigkeiten erkennbar, die Einflußfaktoren prägen sich allerdings nicht so regelmäßig und deutlich aus.

3.3.1.2 pH-Wert

Die in Tabelle 11 zusammengestellten und in Abbildung 11 graphisch dargestellten pH-Werte zeigen, daß zwischen den Meßwerten für Eiklar und Vollei ein produktspezifischer Unterschied existiert. So schwanken die pH-Werte der Eiklarproben zwischen 8.90 und 9.50 und die des Flüssigvolleies zwischen 7.20 und 7.90. Einen wesentlichen Einfluß auf die Wasserstoffionenkonzentration nehmen auch - wie Abbildung 11 erkennen läßt - die jahreszeitlichen Klimaverhältnisse. Während bei den im Sommer gezogenen Volleiproben der pH-Wert unter 7.30 absinkt, erbringen die vergleichbaren Sommerwerte für Flüssigeiklar mit einem Anstieg über 9.20 eine eher gegenläufige Tendenz. Daß bei Eiklar der pH-Wert mit der Keimdichte zunimmt und bei Vollei sich dagegen umgekehrt proportional verhält, geht auch aus dem Verlauf der Regressionsgeraden hervor (Abb. 11).

Betrachtet man die verschiedenen Herkunftsbereiche, so lassen sich innerhalb einer Produktgruppe nur unwesentliche pH-Wert-Differenzen feststellen (Tab. 11). Allerdings entsteht hier der Eindruck, daß hygienisch gewonnenes Eiklar zu niedrigen und mikrobiologisch weniger belastetes Vollei zu hohen pH-Werten tendiert.

Abbildung 11: Beziehung zwischen Keimzahl und pH-Wert der im Frühjahr (○) und im Sommer (●) entnommenen Eiproduktproben



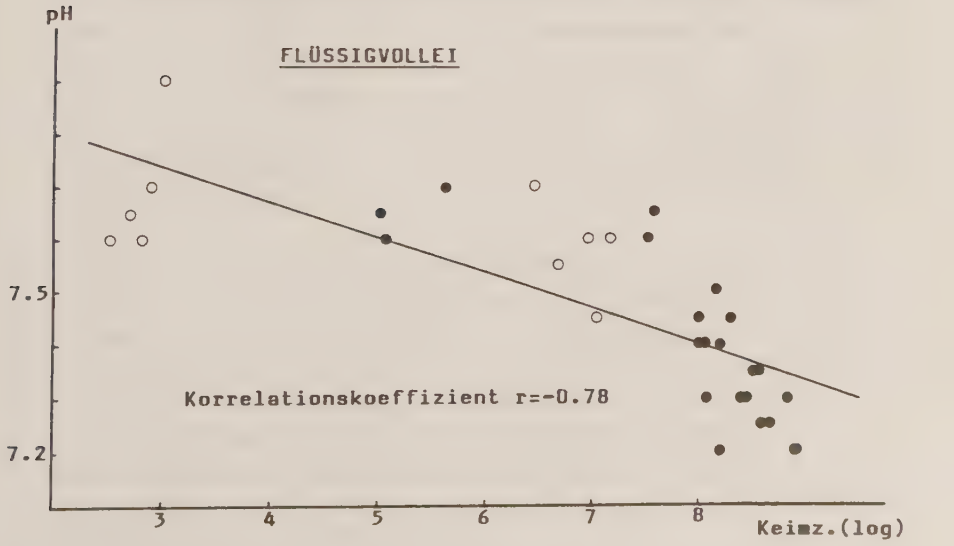


Tabelle 11: Gegenüberstellung der im Frühjahr und Sommer gemessenen pH-Werte

	Frühjahrsproben		Sommerproben	
	$\bar{x} \pm s$	$\tilde{x}$	$\bar{x} \pm s$	$\tilde{x}$
flü. Eiklar (Herkunft: A)	9.11 $\pm$0.16	9.15	9.24 $\pm$0.04	9.25
flü. Eiklar (Herkunft: B)	9.17 $\pm$0.04	9.15	9.34 $\pm$0.10	9.38
flü. Vollei (Herkunft: A)	7.69 $\pm$0.13	7.68	7.65 $\pm$0.10	7.65
flü. Vollei (Herkunft: B)	7.58 $\pm$0.10	7.58	7.39 $\pm$0.13	7.38
flü. Vollei (Herkunft: C)			7.31 $\pm$0.10	7.33

pH-Werte: arithmet. Mittelwerte mit Standardabweichung und Medianwerte

3.3.1.3 Sensorische Untersuchung

Nur 7 (≙ 9.2%) der insgesamt 76 untersuchten Flüssigeiprodukte zeigen deutliche Geruchs- und Konsistenzveränderungen. Es handelt sich dabei um sämtliche Volleiproben des Herstellers C, deren Abweichungen von einer fruchtigen Geruchskomponente bis zu einer mehr oder weniger merkbaren Säuerung reichen und stets von einer zähflüssigen Konsistenz begleitet sind. Allen anderen Eiproben sind ein frischer, spezifischer Geruch, Dünnflüssigkeit und unauffälliges, arteigenes Aussehen gemeinsam. Als zusätzlicher Befund sollen makroskopisch erkennbare kleine Eischalenreste bei 11 Eiklarproben der Firma A nicht unerwähnt bleiben.

3.3.1.4 Verunreinigungen tierischer Art

Zur Bestimmung sämtlicher Filthpartikel werden jeweils 10 ml des Untersuchungsmaterials als Bezugsbasis eingesetzt. Wie die Tabellen 12 und 13 erkennen lassen, werden die Befunde in Häufigkeitsklassen untergliedert, so daß mit Hilfe dieser Gruppierung die Proben anhand der nachgewiesenen Partikel tabellarisch geordnet werden können. Hieraus leitet sich dann eine prozentuale Verteilung der Probenkontingente ab, die ihrerseits zu einer Bewertung nach Punktzahlen (PZ) führt (vgl. Bewertungsschema in 3.2.4.1.4). In den Abbildungen 6 bis 10 und 12 bis 16 ist sowohl die Häufigkeit des Filthvorkommens als auch die Verteilung der Filthpartikel innerhalb einer Produktgruppe für die fünf Chargen graphisch dargestellt.

Insgesamt wird offensichtlich, daß von den drei Verunreinigungsformen lediglich Eischalenreste in nennenswertem Umfang vorkommen. Sie können in 80.3% aller untersuchten Flüssigeiproben gefunden werden, wobei die Eiprodukte der Firma A (Abb. 6, 8 und 12, 14) auffällig viele Bruchstücke enthalten. Bei den übrigen Herstellern lauten die Analysenergebnisse für Schalenfragmente in der Regel ≤ 10 Partikel/10 ml, nur in

Tabelle 12: Gegenüberstellung der im Frühjahr (10°C) und Sommer (27°C) gefundenen Filthpartikel in Flüssigeiklar (Herkunft: A und B)

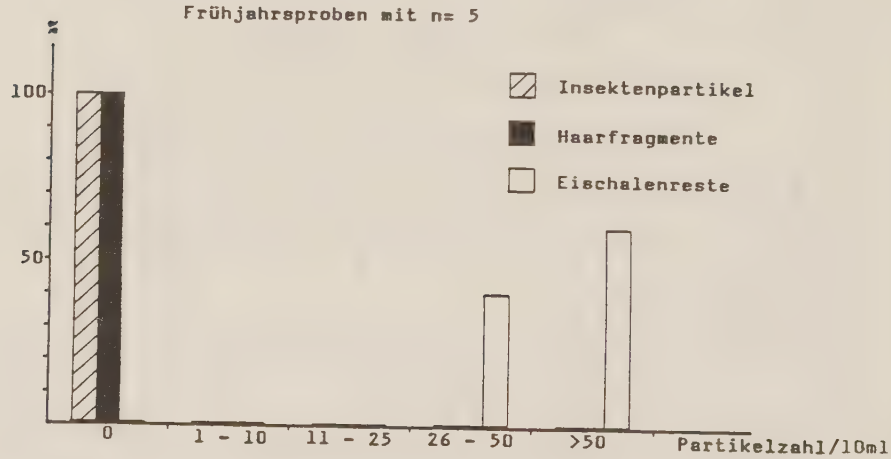
		FLÜSSIGEIKLAR											
		Herkunft: A						Herkunft: B					
		Frühjahrsproben mit n = 5			Sommerproben mit n = 6			Frühjahrsproben mit n = 5			Sommerproben mit n = 26		
		n	(%)	PZ	n	(%)	PZ	n	(%)	PZ	n	(%)	PZ
Insekten-partikel (Partikelzahl)	0	5	100	0	5	83.3	0	4	80	0	22	84.6	0
	1 - 10	-	-	-	1	16.7	1	1	20	1	4	15.4	4
	11 - 25	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	26 - 50	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	>50	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		Gesamt-PZ			Gesamt-PZ			Gesamt-PZ			Gesamt-PZ		
		($\bar{x}$ ±s):		0	($\bar{x}$ ±s):		0.17 ±0.41	($\bar{x}$ ±s):		0.2 ±0.45	($\bar{x}$ ±s):		0.15 ±0.37
Haar- und Federfragmente (Partikelzahl)	0	5	100	0	6	100	0	3	60	0	26	100	0
	1 - 10	-	-	-	-	-	-	2	40	2	-	-	-
	11 - 25	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	26 - 50	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	>50	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		Gesamt-PZ			Gesamt-PZ			Gesamt-PZ			Gesamt-PZ		
		($\bar{x}$ ±s):		0	($\bar{x}$ ±s):		0	($\bar{x}$ ±s):		0.4 ±0.55	($\bar{x}$ ±s):		0
Eischalenreste (Partikelzahl)	0	-	-	-	-	-	-	2	40	0	5	19.2	0
	1 - 10	-	-	-	-	-	-	3	60	3	20	76.9	20
	11 - 25	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	26 - 50	2	40	4	4	66.7	8	-	-	-	1	3.9	2
	>50	3	60	9	2	33.3	6	-	-	-	-	-	-
		Gesamt-PZ			Gesamt-PZ			Gesamt-PZ			Gesamt-PZ		
		($\bar{x}$ ±s): 2.6 ±0.55			($\bar{x}$ ±s): 2.33 ±0.52			($\bar{x}$ ±s): 0.6 ±0.55			($\bar{x}$ ±s): 0.85 ±0.46		

Tabelle 13: Gegenüberstellung der im Frühjahr (10°C), Frühsommer (15°C) und Sommer (27°C) gefundenen Filthpartikel in Flüssigvollei (Herkunft A, B und C)

FLÜSSIGVOLLEI

		Herkunft: A						Herkunft: B						Herkunft: C		
		Frühjahrsproben mit n = 5			Sommerproben mit n = 3			Frühjahrsproben mit n = 5			Sommerproben mit n = 14			Frühsommerproben mit n = 7		
		n	(%)	PZ	n	(%)	PZ	n	(%)	PZ	n	(%)	PZ	n	(%)	PZ
Insekten-partikel (Partikelzahl)	0	4	80	0	3	100	0	4	80	0	12	85.7	0	4	57.1	0
	1 - 10	1	20	1	-	-	-	1	20	1	2	14.3	2	3	42.9	3
	11 - 25	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	26 - 50	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	>50	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		Gesamt-PZ ($\bar{x}$ ±s): 0.2 ±0.45			Gesamt-PZ ($\bar{x}$ ±s): 0			Gesamt-PZ ($\bar{x}$ ±s): 0.2 ±0.45			Gesamt-PZ ($\bar{x}$ ±s): 0.14 ±0.26			Gesamt-PZ ($\bar{x}$ ±s): 0.43 ±0.54		
Haar- und Federfragmente (Partikelzahl)	0	4	80	0	3	100	0	4	80	0	14	100	0	3	42.9	0
	1 - 10	1	20	1	-	-	-	1	20	1	-	-	-	4	57.1	4
	11 - 25	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	26 - 50	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	>50	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		Gesamt-PZ ($\bar{x}$ ±s): 0.2 ±0.45			Gesamt-PZ ($\bar{x}$ ±s): 0			Gesamt-PZ ($\bar{x}$ ±s): 0.2 ±0.45			Gesamt-PZ ($\bar{x}$ ±s): 0			Gesamt-PZ ($\bar{x}$ ±s): 0.57 ±0.54		
Eischalenreste (Partikelzahl)	0	-	-	-	-	-	-	3	60	0	4	28.6	0	1	14.3	0
	1 - 10	-	-	-	-	-	-	2	40	2	10	71.4	10	5	71.4	5
	11 - 25	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	26 - 50	3	60	6	2	66.7	4	-	-	-	-	-	-	1	14.3	2
	>50	2	40	6	1	33.3	3	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		Gesamt-PZ ($\bar{x}$ ±s): 2.4 ±0.55			Gesamt-PZ ($\bar{x}$ ±s): 2.33 ±0.58			Gesamt-PZ ($\bar{x}$ ±s): 0.4 ±0.55			Gesamt-PZ ($\bar{x}$ ±s): 0.71 ±0.47			Gesamt-PZ ($\bar{x}$ ±s): 1.0 ±0.58		

Abbildung 12: Verteilung der Filthpartikel in Flüssigeiweiß (Herkunft: A)



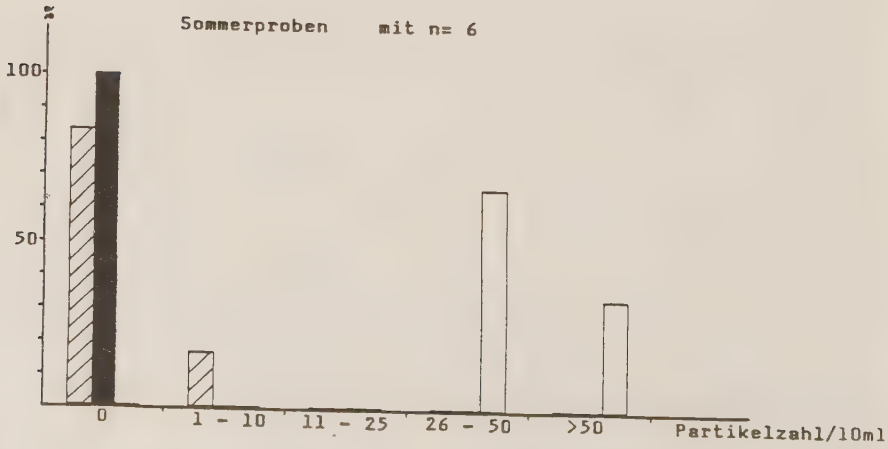
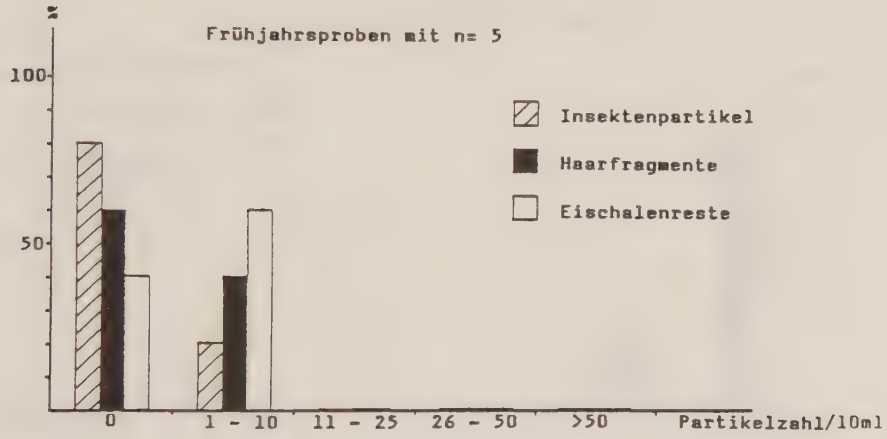


Abbildung 13: Verteilung der Filthpartikel in Flüssigeiweiß (Herkunft: B).



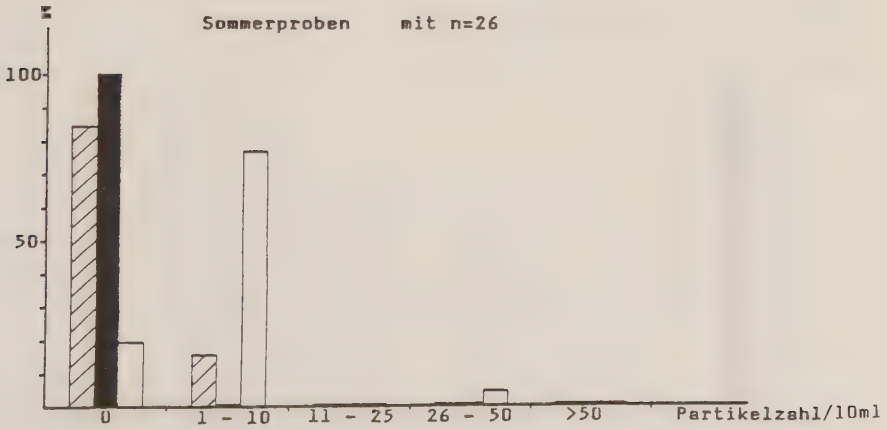
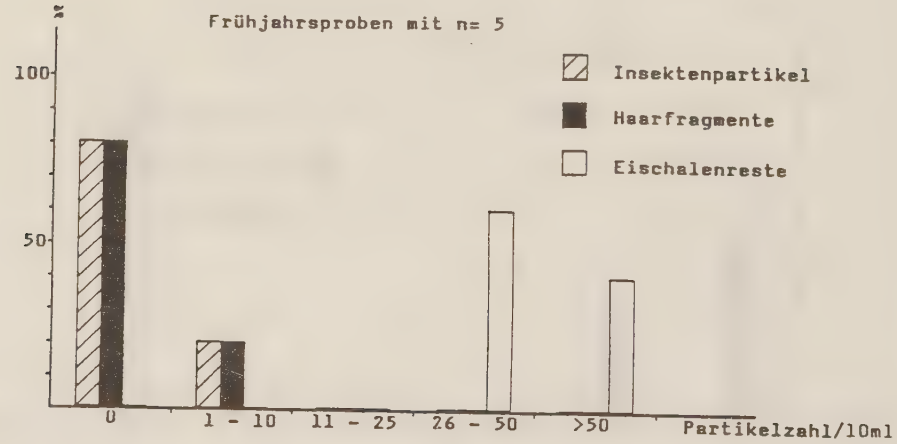


Abbildung 14: Verteilung der Filthpartikel in Flüssigvollei (Herkunft: A)



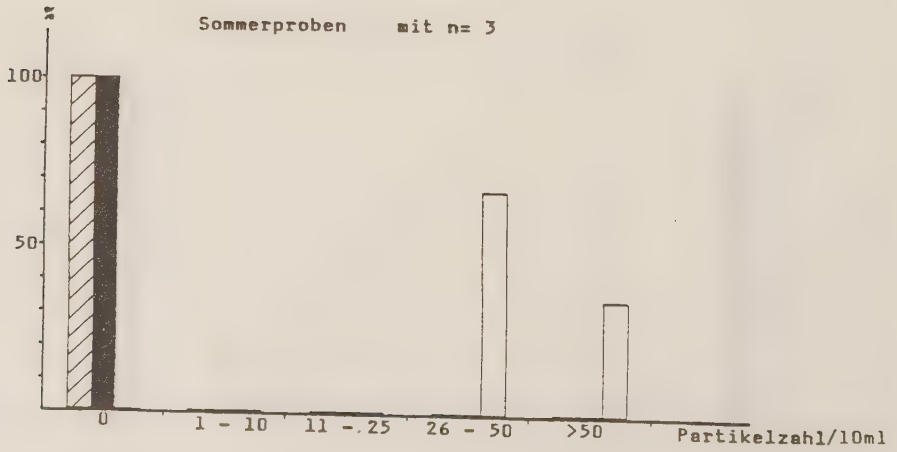
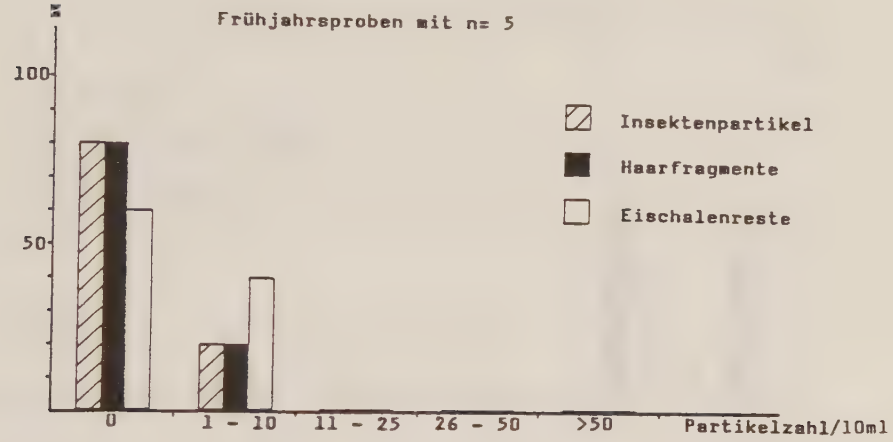


Abbildung 15: Verteilung der Filthpartikel in Flüssigvollei (Herkunft: B)



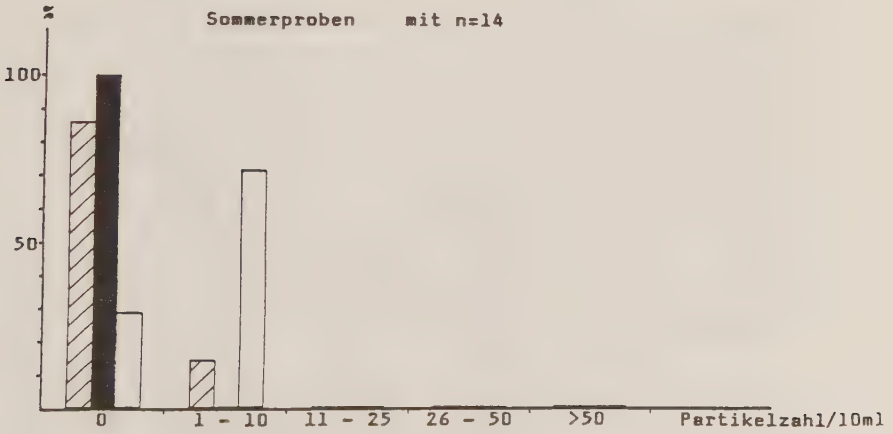
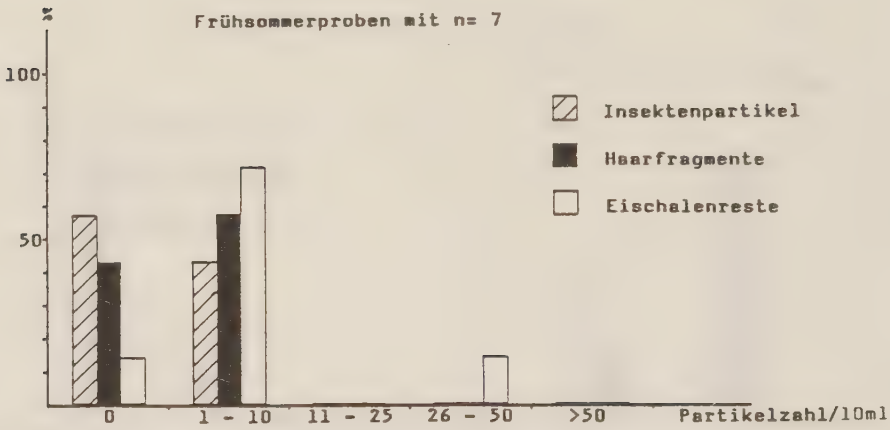


Abbildung 16: Verteilung der Filthpartikel in Flüssigvollei (Herkunft: C)



Ausnahmefällen erreichen sie ≤ 50 Partikel/10 ml. Während das Vorkommen von Eischalenresten von der Herkunft der Proben abhängt, kann eine derartige Beziehung für die übrigen Filthpartikel allein wegen ihres seltenen Auftretens nicht so deutlich herausgearbeitet werden. Zwar lassen sich Insektenfragmente und Federbartstrahlen einschließlich kleiner Haarreste in Einzelfällen nachweisen, in der Regel fehlen sie jedoch. Niemals finden sich mehr als 10 Partikel/10 ml. Dennoch sind Belastungen mit Federfragmenten und Insektenpartikeln vermehrt in Eiprodukten der Herkunft B und C nachzuweisen (Abb. 13, 16 und 19).

3.3.1.5 Harnsäure

Wie aus den Abbildungen 6 bis 10, 17 und 19 sowie Tabelle 14 ersichtlich, unterschreiten die Harnsäuregehalte der Eiklarproben mit Medianwerten zwischen 0.92 und 0.96 mg/100 g für die vier verschiedenen Probenkontingente deutlich die an Volleiproben gewonnenen Ergebnisse, welche "mittlere" Werte von 1.04 bis 1.14 mg/100 g für die fünf Chargen erreichen.

Im Gegensatz zur Art des Eiprodukts üben weder die Herkunft des Untersuchungsmaterials und damit verbunden die Art der Herstellung noch der Zeitpunkt der Probenentnahme einen relevanten Einfluß auf den Harnsäuregehalt aus.

Abbildung 17: Verteilung der Harnsäurewerte

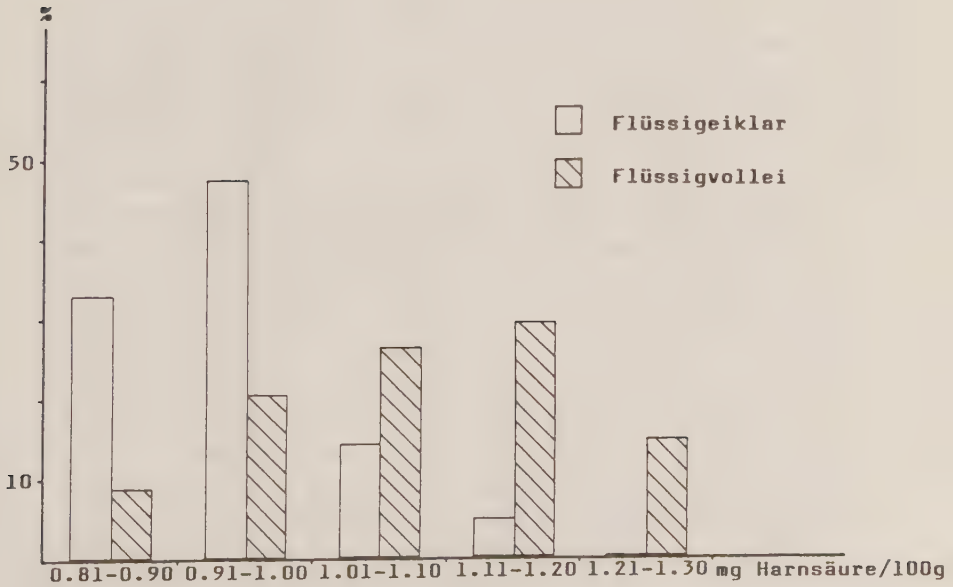


Tabelle 14: Zusammenstellung der Harnsäurewerte für Flüssigeiklar (Herkunft A und B) und Flüssigvollei (Herkunft A, B und C)

Produkt	Herkunft	Entnahme	Proben-anzahl	Harnsäuregehalt in mg/100 g		
				$\bar{x}$	$\pm$ s	$\tilde{x}$
Flüssig-eiklar	A	Frühjahr	5	0.990	$\pm$0.125	0.944
		Sommer	6	0.930	$\pm$0.060	0.929
	B	Frühjahr	5	0.960	$\pm$0.068	0.958
		Sommer	26	0.927	$\pm$0.060	0.921
Flüssig-vollei	A	Frühjahr	5	1.066	$\pm$0.083	1.090
		Sommer	3	1.135	$\pm$0.122	1.132
	B	Frühjahr	5	1.039	$\pm$0.085	1.080
		Sommer	14	1.065	$\pm$0.111	1.044
	C	Früh-sommer	7	1.117	$\pm$0.140	1.142

Harnsäurewerte: arithmet. Mittelwerte mit Standard-abweichung und Medianwerte

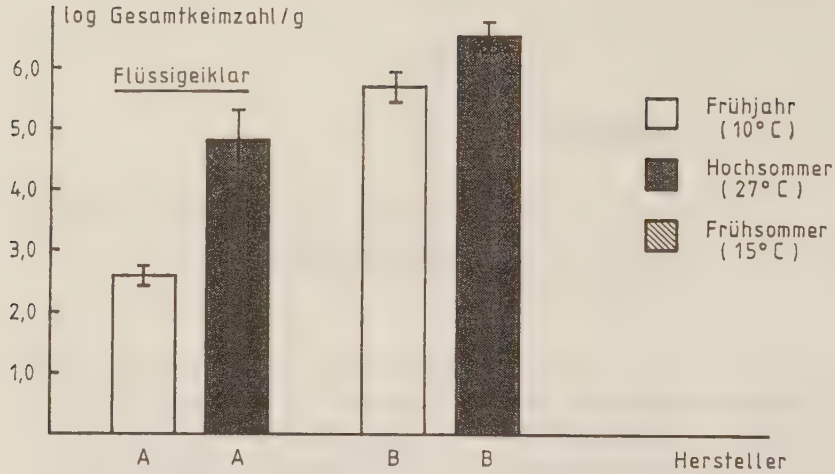
4. DISKUSSION

4.1 Kriterien der Eignungsbemessung

Um die Eignung der untersuchten Merkmale als Hygienekriterium für die Beschaffenheit unpasteurisierter Flüssigeierzeugnisse abschätzen zu können, müssen die Eigenschaften in Relation zu den drei Faktoren Produktart, Probenherkunft sowie Entnahmezeitpunkt gesetzt werden. Ein Parameter läßt sich nur dann zur Qualitätsbeurteilung einsetzen, wenn er in deutlicher Abhängigkeit zu mindestens einer dieser Einflußgrößen steht.

4.1.1 Keimstatus

Von den industriell hergestellten Flüssigerzeugnissen unterliegt insbesondere Vollei einer verstärkten mikrobiellen Gefährdung, da die Vermischung von Eiklar und Eigelb die bakteriostatischen bzw. -lytischen Mechanismen erheblich beeinträchtigt. Soweit im Schrifttum Angaben über den Keimgehalt von Eiprodukten zu finden sind, beziehen sie sich überwiegend auf das hygienisch labile Vollei (JOHNS 1944; KIEFER 1976; KONECNY 1971; LITTMANN 1981; MACKENZIE und SKERMAN 1982; McFARLANE et al. 1945, 1947; MULDER und VAN DER HULST 1973; RAHMAN 1968; REDFIELD 1920; SALOW und RÖHR 1967; SASHIHARA et al. 1979; STEINER 1982; SUZUKI et al. 1979; WINTER und WRINKLE 1949; WRINKLE et al. 1950) und nur zu einem geringen Teil auf maschinell gewonnenes Eiklar (BARNES und CORRY 1969; KIEFER 1976; LITTMANN 1981; RAHMAN 1968). In Übereinstimmung mit den bisher publizierten Untersuchungen ergibt die vorliegende Erhebung, daß die Gesamtkeimzahl von Vollei nicht nur stets um 1 bis 2 Dezimalwerte über denen vergleichbarer Eiklarproben liegt, sondern auch, daß sie von den Produktionsbedingungen (STREICHAN 1966) bzw. dem hygie-



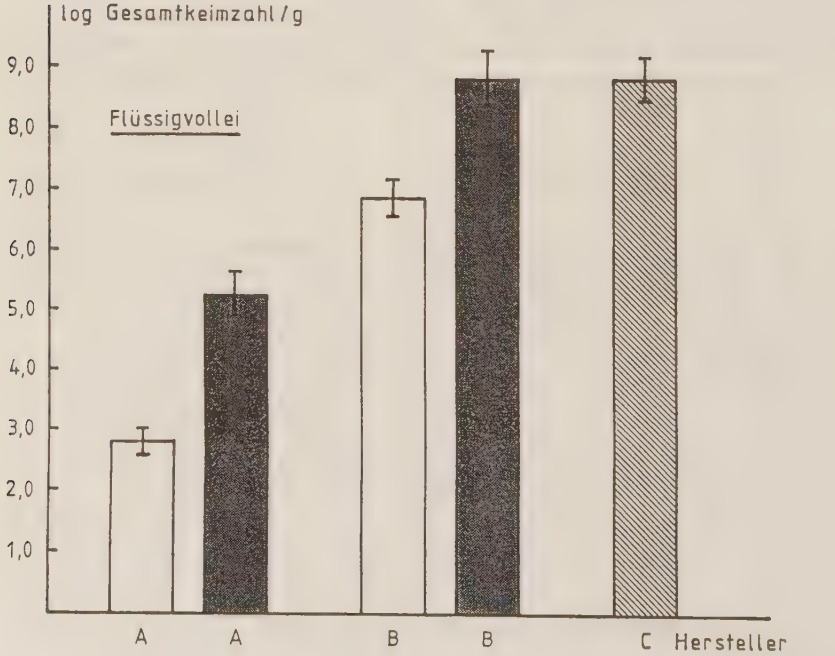


Abbildung 18: Gesamtkeimzahl in unpasteurisiertem Flüssigeiklar und Flüssigvollei in Abhängigkeit vom Herstellerbetrieb und der Jahreszeit

nischen Zustand der Rohwaren (LITTMANN 1981) sowie der Jahreszeit abhängig ist (Abb. 18). So erreichen die im Hochsommer (27°C) gezogenen Eiklar- und Volleiproben des Herstellers B ein Plateau von 10^6 bzw. 10^8 Bakterien/g, während die im gleichen Zeitraum ermittelten Keimzahlen für die Erzeugnisse der Herkunft A lediglich 10^4 bzw. 10^5 Keime/g betragen. Der Unterschied zwischen den im Frühjahr (10°C) und im Hochsommer (27°C) untersuchten Produkten dieser beiden Firmen beläuft sich sogar auf 2 bis 3 Zehnerpotenzen. Dagegen überschreiten die Volleiproben der Firma C, die im Frühsommer (15°C) zur Untersuchung gelangten, mit 10^8 Bakterien/g die für unpasteurisierte Eiprodukte empfohlene Höchstkeimzahl von 10^6/g deutlich. Als Ursache für die unbefriedigende Qualität dieses Herstellers ist neben einer unzureichenden Produktionshygiene auch der mehrere Tage dauernde Transport aus der Bundesrepublik in Erwägung zu ziehen. Bei einer ähnlichen Erhebung isolierten GARIBALDI et al. (1968) in der warmen Jahreszeit erheblich mehr Salmonellen aus frisch aufgeschlagenem Vollei und Eiklar als im Frühjahr oder Winter. Auch nach den Ergebnissen von KRAFT et al. (1967) sowie SUZUKI et al. (1981) korreliert die Populationsdichte der aeroben Keime mit der Salmonellenkontamination. Damit stellt die Gesamtkeimzahl einerseits einen empfindlichen Indikator für die hygienische Belastung dar und gibt andererseits einen Hinweis auf die mögliche Gesundheitsgefährdung durch Salmonellen. Auf den Nachweis dieser Keimspezies wurde allerdings in der vorliegenden Arbeit verzichtet, weil der Probenumfang a priori zu gering ausfiel, um Abhängigkeiten für ein alternatives Merkmal erkennen zu können.

Für die hohe Verderbnisanfälligkeit der im Sommer hergestellten Eiprodukte scheint die Beschaffenheit der Eier selbst zumindest teilweise verantwortlich zu sein. Neben temperaturbedingten Vermischungsvorgängen, die zu kleinsten Dotterein-schlüssen im Weißei führen, wird auch eine von der Jahreszeit abhängige Zunahme der Schalenporosität als Ursache genannt (FORSYTHE 1968; KRAFT et al. 1958). Darüber hinaus begünstigen

auch Mängel in der Kühlkette, unzureichende Isolierung der Transport-Container sowie eine verzögerte Weiterverarbeitung im Empfängerbetrieb insbesondere zur warmen Jahreszeit die Keimentwicklung im Flüssigei. Die Dynamik solcher Verderbsvorgänge konnte in Lagerungsversuchen mit ungekühltem Vollei veranschaulicht werden (LITTMANN 1981; STEINER 1982; VANCURA 1974 a). Entsprechend der Wachstumskurve für diskontinuierliche Kulturen wird in Abhängigkeit von der Dauer des Vermehrungszyklus die exponentielle Wachstumsphase bei 20°C nach ca. 24 Std. und die stationäre Phase mit 10^{10} Keimen/g bereits nach 75 Std. erreicht.

In Übereinstimmung mit den Feststellungen von MULDER und VAN DER HULST (1973) sowie STEINER (1982) bildet sich in Vollei und auch Eiklar stets eine dominierende Laktobazillenflora aus. Sie läßt eine fast ebenso enge Relation zu den drei Einflußgrößen Produktart, Betrieb und Jahreszeit wie die Gesamtkeimzahl erkennen. Es ist daher verständlich, wenn die vornehmlich von Laktobazillen gebildete Milchsäure neben anderen organischen Säuren als Indikator für den mikrobiellen Verderb von unpasteurisierten Eiprodukten empfohlen wird (LITTMANN 1981).

Bei der Diskussion der Laktobazillenwerte dürfen allerdings methologische Probleme nicht unerwähnt bleiben. In der vorliegenden Untersuchung wurde die Laktobazillendichte simultan auf zwei verschiedenen Medien ermittelt, wobei die Ergebnisse des stärker selektiven Ls-Mediums systematisch unter denen des La-Agars lagen, so daß zur Bestimmung der tatsächlichen Keimdichte der La-Nährboden herangezogen wurde. Andererseits besteht gerade beim La-Agar die Gefahr, Enterobakteriazeen nicht eliminieren zu können. Allein wegen des Fehlens eines standardisierten Laktobazillennachweises sollte die quantitative Bestimmung dieser Bakterienart die Ermittlung der Gesamtkeimzahl nur ergänzen und nicht ersetzen.

Von den sogenannten Indikatorkeimen erreichen die Enterobakteriazeen, bei denen der Anteil an Coliformen in den zwei Eiprodukten mit rund 77.3% relativ hoch ausfällt, in den warmen Monaten Maximalwerte von über 10^7 Keimen/g, obwohl die Ergebnisse im Frühjahr nur knapp die Nachweisgrenze überschreiten. Die dabei festgestellten Unterschiede hinsichtlich der Erzeugnissorte und Fabrikationsstätte lassen sich auf grundsätzliche Differenzen in der Gewinnung von Eiklar und Vollei zurückführen. Vollei fällt im Prinzip nur als Nebenprodukt an, wobei es dann meistens von solchen Eiern gewonnen wird, deren Eiweiß und Eigelb infolge Ineinanderfließens nicht getrennt werden konnte oder von Eiern, die während der maschinellen Behandlung beschädigt worden sind (RAHMAN 1968). Weil die Enterobakteriazeenzahl in ihrem Informationswert über die hygienischen Bedingungen und Belastungen nur wenig der Gesamtkeimzahl unterlegen scheint und darüber hinaus in engem Zusammenhang mit dem Salmonellenproblem steht (DAVIS 1969; VAN SCHOTHORST und VAN LEUSDEN 1977; SINELL 1980), sollte auf ihre Bestimmung nicht verzichtet werden.

Zu den hauptsächlich in Eiprodukten anzutreffenden Arten von Streptokokken der serologischen Gruppe D gehören - wie IMAI (1978) sowie PAYNE und GOOCH (1980) feststellten - Sc. faecalis, Sc. faecalis var. liquefaciens und Sc. faecium. Im vorliegenden Material gelang der Enterokokkennachweis lediglich in den mikrobiell höher belasteten Erzeugnissen der Herkunft B und C. Infolgedessen wird die vorgeschlagene Höchstkeimzahl von 10^5 Enterokokken/g (BRAG 1982) nur von einigen in der warmen Jahreszeit untersuchten Volleiproben übertroffen. Der Keimgehalt der übrigen Proben aus diesen zwei Produktionsstätten schwankt ohne wesentliche Abhängigkeit von den drei überprüften Einflußfaktoren zwischen 10^2 und 10^4 D-Streptokokken/g. Auch wenn in Analogie zu IMAI (1980) angenommen werden darf, daß der Anteil Enterokokken-positiver Proben in erster Linie von der Art und Hygiene der Herstellung abhängig ist, besitzt die Ermittlung der Enterokokkenzahl für die vorliegende Erhebung nur geringe Aussagekraft.

Mikrokokken erreichen zwar beim Sommervollei der Herkunft B und C in Einzelfällen Werte von 10^5 Keimen/g, dennoch treten auch hier keine eigelbpositiven Staphylokokken oberhalb der Nachweisgrenze von 10^2 auf. Im Gegensatz zu SUZUKI et al. (1981), die in drei von vier verschiedenen Herstellerbetrieben zwischen 31% und 72% St. aureus-positive Volleiproben fanden, berichten LUKASOVA et al. (1976) sowie RAHMAN (1968) von ähnlichen Beobachtungen. Die geringe Bedeutung der Staphylokokken führt RAHMAN (1968) ganz allgemein auf die guten hygienischen Bedingungen während der Produktion zurück. Darüber hinaus kann nicht ausgeschlossen werden, daß eine stark entwickelte Begleitflora das Wachstum von Mikrokokken kompetitiv hemmt.

Die maßgebliche Beteiligung der Pseudomonaden am Verderb von Eiern resultiert aus einer Vielzahl von Selektionsvorteilen, die sie sich gegenüber anderen Keimgruppen durch spezifische Stoffwechselleistungen verschaffen. So bilden die Spezies Ps. fluorescens, Ps. ovalis, Ps. convexa sowie Ps. aeruginosa im Weißei das wasserlösliche, grün-fluoreszierende Pigment "Pyoverdin", welches in über 80% der verdorbenen Eier nachgewiesen werden kann. Dieser Farbstoff neutralisiert kompetitiv den Conalbumineffekt, indem er zwar ebenfalls Metallionen durch Komplexbildung bindet, diese aber Mikroorganismen wieder zur Verfügung stellt (ELLIOTT 1954; ELLIOTT et al. 1964; GARIBALDI 1960, 1970). Weiterhin vermehren sich Pseudomonaden wegen ihrer bei kühlen Temperaturen kürzeren Generationszeit schneller als andere Keime und wachsen infolgedessen vornehmlich bei eiweißreichen Lebensmitteln zum dominierenden Floraanteil heran (AYRES 1960; GILL und NEWTON 1977). Aufgrund ihrer lipo- und proteolytischen Aktivität beeinträchtigen sie auch bei Kühlhaustemperaturen die sinnfällige Beschaffenheit der Schaleneier bzw. Eiprodukte durch Geruchsabweichung und Schleimbildung (ALFORD et al. 1950; ARTAULT 1894; BROOKS und HALE 1954; FLORIAN und TRUSSEL 1957; HAINES 1938; LORENZ et al. 1952; POPPE 1910; RICHARD und MOHLER 1950; WRINKLE et al. 1950). Als charakteristische Veränderungen gelten einmal das

durch pigmentbildende Pseudomonaden hervorgerufene Bild der Grünfäule, wie es sich beim Durchleuchten der Eier im filtrierten UV-Licht zeigt, sowie ein fruchtartiger, muffig-dumpfer Geruch. Nach D'AUBERT (1981) sowie MACKENZIE und SKERMAN (1982) stellt hauptsächlich die Spezies Pseudomonas putida ein hygienisches Risiko für Eiprodukte dar.
In der vorliegenden Erhebung beeinflussen die Pseudomonaden, für deren Ermittlung der nicht hochselektive GSP-Agar zum Einsatz kam, mit Bakterienzahlen von 10^3 bis 10^7/g das Keimprofil deutlich. Sie lassen bei den Flüssigeiproben der Firmen B und C die bereits für Laktobazillen und die Gesamtkeimzahl aufgezeigte Abhängigkeit vom Erzeugungsbetrieb, der Produktart und jahreszeitlichem Klima ebenfalls klar erkennen. Lediglich bei den Produkten der Herkunft A können sich die Einflußfaktoren insofern weniger offensichtlich ausprägen als die Pseudomonadenzahlen der Frühjahrsproben (10°C) unterhalb der Nachweisgrenze und die der Sommerproben (27°C) über 10^3/g liegen. Als Erklärung für die geringe Besiedlung im Frühjahr kommt sowohl die insgesamt schwache mikrobielle Belastung dieses Materials als auch eine bei kühlen Temperaturen verlängerte lag-Phase in Betracht (FARRELL und ROSE 1968; KUKULINSKY-FULLER und NELSON 1977). Psychrotrophe Verderbsorganismen wie Pseudomonaden besitzen aber bei Lagerungstemperaturen unter 30°C einen entscheidenden Selektionsvorteil, so daß sie sich auch in hygienisch gewonnenen Eiprodukten nach einer Erholungsphase durchsetzen dürften. Aufgrund des ursächlichen Zusammenhangs zwischen dem Vorkommen von Pseudonomaden und dem Verderb von Eiern erbringt ihre Bestimmung wichtige Informationen im Hinblick auf eine umfassende Beurteilung des Hygienestatus von Flüssigeierzeugnissen.

4.1.2 pH-Wert

Erwartungsgemäß zeigte sich auch bei den hier erhobenen Werten in Eiklar eine alkalische Reaktion, während Vollei ein mit dem physiologischen pH-Wert des Blutes vergleichbares Milieu

besitzt. Für diesen Befund ist grundsätzlich ein unterschiedliches Anionen/Kationen-Konzentrationsverhältnis verantwortlich, welches mit 2.3 für den gesamten Eiinhalt und 0.54 für Weißei angegeben wird (NEEDHAM 1931; ROMANOFF und ROMANOFF 1963).

Bemerkenswert scheint zunächst die Feststellung zu sein, daß in Eiklar der pH-Wert mit der Keimdichte zunimmt. Wie sich beim Vergleich mit den Angaben von SCHOLTYSSEK (1979) herausstellt, liegen die zwischen pH 8.90 und 9.50 schwankenden Meßwerte aber durchaus noch im normalen Streubereich und erklären das Fehlen sensorischer Abweichungen. GHONIEM (1972) registrierte bei Lagerungstemperaturen von 4°C und 30°C sogar einen Anstieg auf pH 10.0, allerdings ohne korrespondierende Keimzahlen bekanntzugeben. Daß sich nach 15-tägiger Inkubation (20°C) zwar ein Trend zu hohen pH-Werten erkennen läßt, gleichzeitig aber nur zögernd ein Keimgehalt von 10^4 Bakterien/g erreicht wird, führt LITTMANN (1981) auf die wachstumshemmenden Faktoren im Weißei zurück. Sie begünstigen durch Selektion die Entwicklung einer spezifischen Pseudomonaden- und Enterobakteriazeenflora, welche dann einer laktobazillenbedingten Säuerung durch proteolytische Aktivität entgegenwirken kann und damit die Senkung des pH-Wertes verhindert. Ein alkalisches Milieu entsteht aber auch, wenn im Verlauf einer mehrtägigen Lagerung die Pufferwirkung von H_2CO_3 nachläßt. Da das Weißei kaum verderbsgefährdet ist, kann durch Bestimmung der Wasserstoffionenkonzentration lediglich der Frischezustand, aber nicht die Haltbarkeitsreserve von Eiklar eingeschätzt werden.

In mikrobiell stärker belastetem Vollei treten dagegen bei einzelnen Proben nicht nur Geruchsabweichungen auf, sondern es kommt auch zur Säuerung der Eimasse und damit zu eindeutigem Verderb. Bevor jedoch organoleptische Veränderungen und ein pH-Wert-Abfall unter pH 7.2 als Folge mikrobieller Tätigkeit zu beobachten sind, muß primär ein Keimzahlanstieg auf Werte von über 10^6 Bakterien/g erfolgt sein (STEINER 1982). Ähnliche

Zusammenhänge konnte LITTMANN (1981) sowohl in Laborversuchen als auch bei der Untersuchung von Proben aus dem Handel erkennen: Parallel zum sprunghaften Anstieg von Milch-, Brenztrauben- und Bernsteinsäure ab einer Gesamtbelastung von 10^7 Keimen/g sank der pH-Wert - stets begleitet von einer säuerlich-fauligen Geruchskomponente - auf Werte bis pH 6.40 ab. Allein durch die Prüfung des Geruchs und pH-Wertes läßt sich demzufolge die Verarbeitungsfähigkeit von Vollei beurteilen.

4.1.3 Verunreinigungen tierischer Art

Um die einwandfreie Qualität von Lebensmitteln, insbesondere solchen, die wie Milch- und Eiprodukte strengen hygienischen Anforderungen unterliegen, zu gewährleisten, wurde im Schrifttum (GIOLITTI 1973, 1979; LITTMANN 1981; OTTOGALLI 1982) mehrfach die Organisation von Eingangskontrollen und Untersuchungsprogrammen gefordert.
Zur Überwachung von Eiprodukten bietet sich die Bestimmung tierischer Verunreinigungen an, da sie als Träger pathogener und apathogener Mikroorganismen nicht nur ein hygienisches Risiko anzeigen, sondern auch als objektiver Indikator ungenügender Sorgfalt bzw. Kontrolle bei Herstellung, Transport und Lagerung aufzufassen sind.

Zum Einsatz in der Qualitätskontrolle von unpasteurisiertem Vollei und Eiklar muß die bisher lediglich bei Lebensmitteln pflanzlichen Ursprungs angewandte Methodik auf dieses Substrat adaptiert werden. Der große Überschuß an koagulierfähigen Proteinen und Lipiden behindert den Filtrations- und Färbevorgang erheblich. Durch den Probenaufschluß mit Hilfe eines Trypsin-Phosphatpuffer-Gemisches und die anschließende Filtration über ein randhydrophobiertes Membranfilter können die störenden Einflüsse jedoch eliminiert und die Filthpartikel vollständig auf der Filterscheibe angesammelt werden. Im nächsten Schritt werden dann drei verschiedene Fremdmateri-

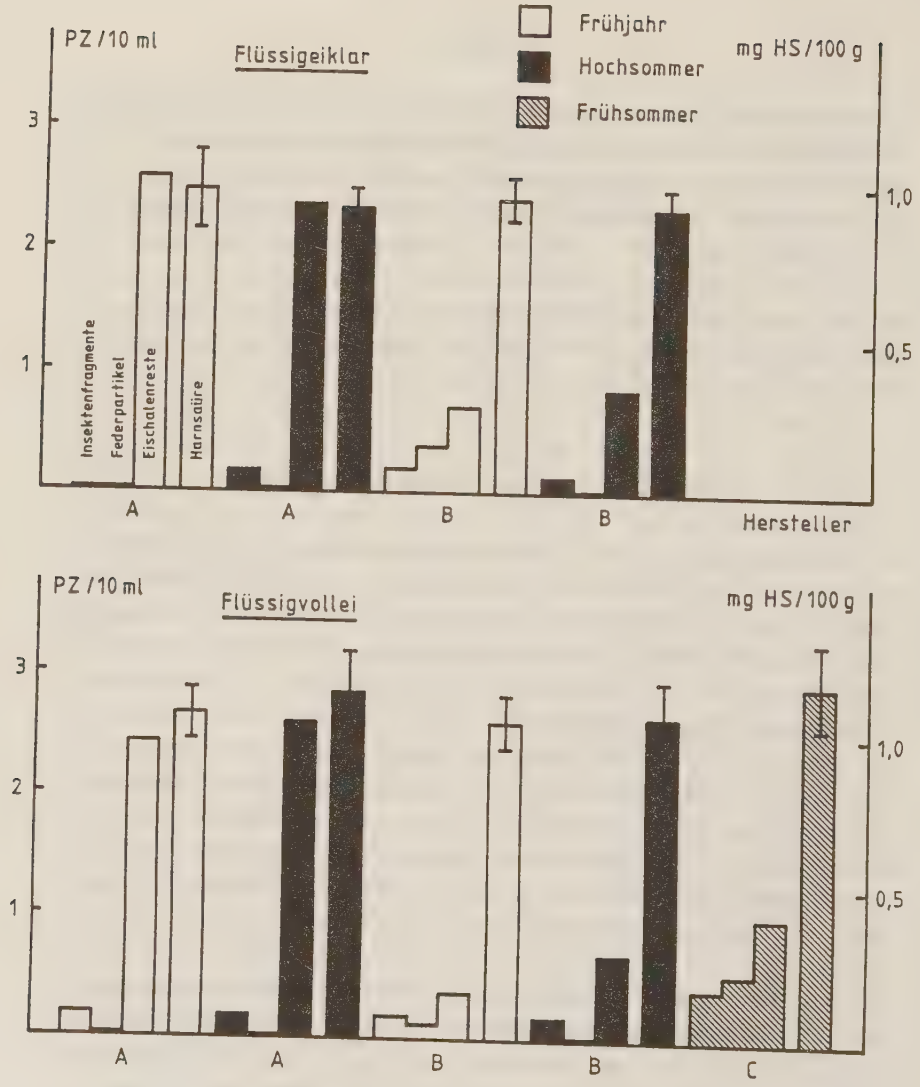


Abbildung 19: Gehalt an tierischen Verunreinigungen und Harnsäure in Abhängigkeit von Eiprodukt, Hersteller und Jahreszeit

alien spezifisch angefärbt, nämlich chitinhaltige Insektenfragmente mit Phloxin B, Haar- und Federpartikel mit Remazolbrillantblau R sowie Eischalenreste mit der Silbernitratreaktion. Nach Auswaschen des überschüssigen Farbstoffes werden die Membranfilter getrocknet, mit Pyranton-Butylacetat-Xylol-Reagens auf einem Dia-Glas transparent gemacht und abschließend nach einem Punktschema mikroskopisch ausgewertet. Im Vergleich zur DÖRING'schen Originalmethode (1976 a, b) beansprucht der Filth-Test für Flüssigei allerdings aufgrund der Probenaufbereitung einen höheren Zeit- und Arbeitsaufwand.

Im Gegensatz zu den Beobachtungen von GUILBOT und GUILLEMET (1951), die weder in Frischeiern noch in Trockeneierzeugnissen Filthpartikel nachweisen konnten, fällt unter den Ergebnissen der vorliegenden Erhebung die intensive Verunreinigung mit Eischalenresten bei der Firma A auf (Abb. 12, 14, 19). Dieser Befund steht eher mit der Probengewinnung als mit der Erzeugungsqualität in Zusammenhang, denn nur beim Hersteller A standen frisch aufgeschlagene Eiprodukte zur Verfügung. Die Proben der Betriebe B und C stammen dagegen aus Transportcontainern, so daß zumindest ein Teil der korpuskulären Elemente bereits sedimentiert und damit für die Materialentnahme nicht mehr zugänglich war. Trotz dieser Einschränkung scheint eine lose Beziehung zwischen den tierischen Verunreinigungen einerseits und dem Hygienestatus andererseits zu bestehen. Die mikrobiell besonders belasteten Erzeugnisse der Firma C besitzen auch einen hohen Gehalt an Insektenfragmenten und Federkielen (Abb. 16, 19).

Obgleich die Fremdbestandteile im weiteren Produktionsablauf entweder mechanisch separiert oder zusammen mit der Eimasse pasteurisiert werden, sind die in der Rohware nachgewiesenen Filthpartikel trotz ihrer geringen Größe als "ekelerregende Substanzen" aufzufassen. Nach ZIPFEL (1983) gilt der in § 17 (1) 1 LMBG angesprochene Tatbestand des "nicht zum Verzehr geeignet" schon als erfüllt, wenn - wie im vorliegenden Fall

eines positiven Filthbefundes - objektive Anknüpfungspunkte für Ekelempfindung vorhanden sind. Darüber hinaus läßt das Vorkommen von tierischen Verunreinigungen unsaubere Produktionsbedingungen vermuten und kann deshalb als Mißachtung der in den Lebensmittelhygiene-Verordnungen für die Gewinnung von Lebensmitteln festgelegten allgemeinen hygienischen Vorschriften ausgelegt werden. So sind nach § 3 (1) der Berliner Verordnung Lebensmittel so herzustellen, in den Verkehr zu bringen oder zu behandeln, daß sie "keiner nachteiligen Beeinflußung, insbesondere durch ... Haustiere, menschliche oder tierische Ausscheidungen, tierische Schädlinge, Ungeziefer, ... , Schmutz, ..." ausgesetzt sind. Da die Versuche der vorliegenden Arbeit eher der Erarbeitung einer Standardmethode dienten und weniger die Festlegung von Toleranzgrenzen bezweckten, sollen lediglich die hiermit verbundenen rechtlichen Probleme zur Diskussion gestellt werden. Eine konkrete Beurteilungsstrategie läßt sich hingegen nicht aus den Resultaten ableiten. Dennoch erscheint der Nachweis tierischer Verunreinigungen mit Hilfe des Filth-Testes geeignet, nachteilige Einflüsse bei der Gewinnung und Herstellung von Eiprodukten zu erfassen.

4.1.4 Harnsäure

Neben mikrobiologischen und tinktoriellen Verfahren sollte unter Berücksichtigung der bisher in der Literatur niedergelegten Erfahrungen weiterhin nach einer chemischen Analysenmethode gesucht werden, die eine Beurteilung des hygienischen Zustandes von unpasteurisierten Flüssigeiprodukten gestattet. Dazu bot sich der enzymatische Nachweis von Harnsäure an. Diese Substanz gilt zum einen als Indikator für Verunreinigungen mit Vogelexkrementen sowie Stoffwechselschlacken von Insekten, zum anderen erfordert das Verfahren selbst einen geringen apparativen Aufwand, so daß es für die Routineüberwachung in den weiterverarbeitenden Betrieben praktikabel

erscheint. Für die Probenaufbereitung empfiehlt sich aufgrund umfangreicher Vorversuche die Eiweißfällung mit Perchlorsäure in Anlehnung an PARRY et al. (1980). Die Bestimmung der Harnsäurekonzentration erfolgt mit Hilfe der im CBR-Programm Harnsäure der Firma BOEHRINGER Mannheim zusammengestellten Reagenzien nach einem modifizierten Reaktionsansatz. Mit der erarbeiteten Methode kann sowohl der Harnsäurespiegel frischer Eier ("Blindwerte", Tab. 6, 7) als auch der von unterschiedlich stark kontaminierten Eiprodukten des Handels (Tab. 14) bestimmt werden. Der Vergleich dieser Werte sollte dann Aufschluß über die zur Beurteilung einer etwaigen Kontamination wichtige Grenzkonzentration an Harnsäure geben. Da aber weder die Herkunft des Untersuchungsmaterials und damit verbunden die Art der Herstellung noch der Zeitpunkt der Probenentnahme einen relevanten Einfluß auf den Harnsäuregehalt ausüben (Abb. 19), muß die Indikatorfunktion der Harnsäure für die Hygiene der Eiproduktgewinnung als sehr gering eingeschätzt werden. Dieses Ergebnis kommt nicht unerwartet, weil die Flüssigeierzeugnisse nach Ankunft im Pasteurisationswerk in der Regel zügig weiterverarbeitet werden. Nach PIXTON (1965) wird ein Insektenbefall nämlich nur dann durch einen charakteristischen Harnsäurespiegel indiziert, wenn sich in mehrwöchiger Lagerzeit eine ausreichende Populationsdichte herausgebildet hat. Andererseits muß die Verunreinigung der Eiprodukte mit Vogelexkrementen, sei es beim Aufschlagen durch kotverschmierte Eischalenbruchstücke oder durch direkte Defäkation, aufgrund der vorliegenden Untersuchungsergebnisse als unerheblich erachtet werden. Zumindest schlägt sie sich nicht im Harnsäuregehalt nieder.

Lediglich zwischen Eiklar und Vollei besteht mit Normbereichen von 0.92 - 0.96 bzw. 1.04 - 1.14 mg Harnsäure/100 g Material ein produktspezifischer Unterschied (Abb. 17, 19). Ähnliche Feststellungen machten auch IMURA und NONAMI (1972) sowie DE BOECK et al. (1970), als sie Harnsäure neben anderen Purinderivaten in Eiklar und Dotter von Hühnern bzw. Enten mit Hilfe der Ionenaustauschchromatographie nachwiesen. Wenn auch

die von IMURA und NONAMI (1972) angegebenen Harnsäuregehalte - wohl aus analytischen Gründen - um max. 0.4 mg Harnsäure/100 g Material von den in dieser Arbeit ermittelten Konzentrationen differieren, so scheint dennoch die Schlußfolgerung gerechtfertigt zu sein, daß Harnsäure in Flüssigei als physiologischer Bestandteil vorhanden ist und infolgedessen die festgestellten Konzentrationsunterschiede im biologischen Schwankungsbereich liegen.

4.2 Auswahl eines geeigneten Hygienekriteriums

Die Beurteilung des Hygienestatus und der Verarbeitungsfähigkeit unpasteurisierter Flüssigeiprodukte kann durch eine mikrobiologische Analyse ausreichend objektiviert werden. Allerdings fällt die Eignung, als deren Kriterium - wie einleitend dargestellt - eine enge Relation zu den drei Faktoren Produktart, Probenherkunft sowie Entnahmezeitpunkt gilt, für die einzelnen Bakteriengruppen sehr unterschiedlich aus. Am deutlichsten wird die Gesamtkeimzahl durch die genannten Größen beeinflußt und stellt damit einen empfindlichen Indikator für die hygienische Belastung dar. Der von LITTMANN (1981) für Vollei vorgeschlagene Grenzwert von 10^7 koloniebildenden Einheiten/g deckt sich annähernd mit den vorliegenden Ergebnissen. Bei einer Besiedlungsdichte über 10^8 Keimen/g besteht die Gefahr eines sensorisch manifesten Verderbs. Für die Eingangskontrolle von Eiklar empfiehlt sich hingegen ein Limit von 10^6 Keimen/g. Für das Merkmal der Gesamtkeimzahl spricht weiterhin, daß es aufgrund der Korrelation mit der Salmonellenkontamination (KRAFT et al. 1967; SUZUKI et al. 1981) einen Hinweis auf mögliche Gesundheitsgefährdungen gibt.

Da die Laktobazillen sowohl in Vollei als auch in Eiklar offenbar den dominierenden Floraanteil bilden, ist es ver-

ständlich, daß auch sie eng mit den drei Einflußfaktoren in Beziehung stehen. Von den übrigen Keimgruppen besitzen die Enterobakteriazeen gleichfalls sehr gute, die Pseudomonaden mäßige sowie die Mikrokokken und Enterokokken eher schlechte Indikatoreigenschaften. Aber gerade auf die Ermittlung der Pseudomonaden sollte nicht verzichtet werden, da sie die spezifische Verderbnisflora bilden (AYRES 1960; BARNES und CORRY 1969; BROOKS und HALE 1954; HAINES 1938; KIEFER 1976; LORENZ et al. 1952; RAHMAN 1968; STEINER 1982; WRINKLE et al. 1952).

Die zusätzliche Ermittlung der Wasserstoffionenkonzentration und des sensorischen Befundes vermag insbesondere beim hygienisch labilen Vollei die bakteriologische Untersuchung abzusichern bzw. zu unterstützen. Während der pH-Wert des Albumins mit zunehmender Keimbesiedlung von ungefährt 9.1 auf 9.3 ansteigt, fällt er bei Vollei von 7.6 auf ca. 7.2 ab. Parallel dazu sind bei diesem Produkt vermehrt sensorische Abweichungen in Form einer zähflüssigen Konsistenz sowie eines fruchtig-sauren Geruchs zu beobachten. Obgleich die Veränderungen der Wasserstoffionenkonzentration recht gering ausfallen, lassen sie sich beim Vollei diagnostisch auswerten, indem ein pH-Wert von 7.2 die Gefahr des bakteriellen Verderbs anzeigt, wie auch aus der Literatur hervorgeht (LITTMANN 1981; STEINER 1982).

Die Harnsäurebestimmung erlaubt keine Charakterisierung der Kontamination mit Vogelexkrementen sowie Stoffwechselschlacken von Insekten.

Der Filth-Test ermöglicht die färberische Erfassung von tierischen Verunreinigungen, die wegen ihrer geringen Partikelgröße und des Verlustes markanter anatomisch-morphologischer Merkmale nach einem Verarbeitungsprozeß nur durch Anwendung einer geeigneten Technik identifiziert und als "ekelerregende Substanzen" erkannt werden können. Die Bedeutung eines solchen Verfahrens liegt einerseits in der Fest-

stellung der hygienischen Unbedenklichkeit eines Lebensmittels und andererseits in Verbindung mit der Ermittlung des mikrobiologischen bzw. sensorischen Befundes sowie des pH-Wertes in der Abschätzung der Verarbeitungsfähigkeit.

Wegen erheblicher methodologischer Probleme lag der Schwerpunkt der vorliegenden Arbeit mehr auf der Adaption von Analysenverfahren an das Substrat Vollei und Eiklar als auf der Untersuchung möglichst vieler und damit repräsentativer Stichprobenzahlen. Die Aussagen zur Charakterisierung des Hygienestatus anhand der überprüften Kriterien stellen folglich keine endgültigen Vorschläge dar. Sie sind vielmehr als Hinweise zu werten, wie eine Qualitätsbeurteilung bei der Eingangskontrolle unpasteurisierter Flüssigeierzeugnisse erfolgen könnte. Insbesondere beim Filth-Test bedarf es noch umfangreicherer Erhebungen über die Frage, bis zu welcher Toleranzgrenze auch hygienisch gewonnenes Flüssigei tierische Verunreinigungen aufweisen darf. Im Hinblick auf die Notwendigkeit zur schnellen Entscheidung bei der Qualitätseinstufung sollte auch weiterhin nach einem kurzfristig bestimmbaren, chemischen Parameter gesucht werden. Anstelle der Harnsäure könnten entweder die bereits für mikrobielle Einwirkung als charakteristisch geltende Bernsteinsäure oder die ß-Hydroxybuttersäure als Indikator für die Verwendung von befruchteten, bebrüteten Eiern (LITTMANN 1981) mit einem für die Routineuntersuchung geeigneten enzymatischen Verfahren bestimmt werden. Eine praktikable Methode zum enzymatischen Nachweis von ß-Hydroxybuttersäure mit Hilfe der D-ß-Hydroxybuttersäuredehydrogenase ist erst kürzlich von PARRY et al. (1980) veröffentlicht worden. Das dort empfohlene und auch in dieser Arbeit erfolgreich angewandte Aufarbeitungsverfahren läßt sich mit Sicherheit zur Bestimmung von Bernsteinsäure, wie sie in der Firmenschrift der BOEHRINGER Mannheim GmbH (1980) allgemein für Lebensmittel beschrieben ist, heranziehen.

5. ZUSAMMENFASSUNG

Im Rahmen der vorliegenden Untersuchung wurde versucht, den Hygienestatus von unpasteurisierten Flüssigeiprodukten mit Hilfe verschiedener Parameter zu erfassen und damit die Brauchbarkeit für die Weiterverarbeitung möglichst objektiv zu charakterisieren. Weil insgesamt 76 Proben des Handels unter den klimatischen Bedingungen des Frühjahrs, Frühsommers und Hochsommers entnommen wurden, konnte nicht nur der Einfluß der Erzeugnissorte Eiklar oder Vollei sowie von drei verschiedenen Herstellungsstätten, sondern auch die Auswirkung der Witterung auf die Produktbeschaffenheit als dritter Faktor erfaßt werden. Der Untersuchungsgang umfaßte neben dem sensorischen Befund und Keimzahlbestimmungen auf verschiedenen Selektivmedien stets die Ermittlung des pH-Wertes, des Harnsäurespiegels und des Gehaltes an tierischen Verunreinigungen. Für den enzymatischen Harnsäurenachweis und die färberische Darstellung von Insektenfragmenten, Haar- und Federpartikeln sowie Eischalenresten, den sogenannten Filth-Test, mußten die bisher publizierten Methoden in umfangreichen Vorversuchen auf das Substrat Ei adaptiert und modifiziert werden.

Die Untersuchungsergebnisse führten zu folgenden Feststellungen:

1. Mit den drei Einflußfaktoren Produktart, Fabrikationsstätte und klimatischen Bedingungen korreliert die Gesamtkeimzahl am besten und bietet demnach ein brauchbares Kriterium für die hygienische Belastung. Von den übrigen Mikroorganismen besitzen sowohl die Laktobazillen (La-Agar) als auch die Enterobakteriazeen gleichfalls sehr gute, die Pseudomonaden mäßige sowie die Mikrokokken und Enterokokken eher schlechte Indikatoreigenschaften. Vollei mit einer Gesamtkeimzahl von $\geqslant 10^8$ Keimen/g zeigt bereits sinnfällige Verderbniserscheinungen, während bei Eiklar die aerobe Gesamtkeimzahl 10^6/g nicht überschreitet.

2. Die Entwicklung der pH-Werte divergiert bei Eiklar und Vollei deutlich. Mit zunehmender Keimdichte steigt der pH-Wert des Albumins von ungefähr 9.1 auf 9.3 an, hingegen fällt er bei Vollei - in einigen Fällen begleitet von sensorischen Abweichungen - von 7.6 auf ca. 7.2 ab. Diese Veränderungen der Wasserstoffionenkonzentration lassen sich insbesondere beim Vollei diagnostisch auswerten, indem ein pH-Wert von 7.2 die Gefahr des bakteriellen Verderbs anzeigt.

3. Die Aussagekraft des Harnsäuregehaltes, welcher als Indikator für Verunreinigungen mit Vogelexkrementen sowie Stoffwechselschlacken von Insekten gilt, ist sehr gering einzuschätzen. Lediglich zwischen Eiklar und Vollei besteht mit Normbereichen von 0.92 - 0.96 bzw. 1.04 - 1.14 mg Harnsäure/100 g Material ein produktspezifischer Unterschied.

4. Unter den Ergebnissen des Filth-Testes fällt die häufige Verunreinigung mit Eischalenresten auf. Sie konnten in 80.3% aller untersuchten Flüssigeiproben gefunden werden, während Insektenfragmente sowie Federbartstrahlen einschließlich kleiner Haarpartikel nur in Einzelfällen nachgewiesen wurden.

Die Gesamtheit der Untersuchungsergebnisse bestätigt das Konzept der Eiprodukte-VO insoweit, als sich die zur Beurteilung des pasteurisierten Erzeugnisses vorgeschriebenen beiden Merkmale Gesamtkeim- und Enterobakteriazeenzahl auch zur Charakterisierung des Hygienestatus von unerhitztem Vollei und Eiklar eignen. Das besonders verderbnisanfällige Vollei sollte nur weiterverarbeitet werden, wenn die Gesamtkeimzahl unter 10^8/g liegt und der pH-Wert ein Limit von 7.2 überschreitet. Zusätzlich empfiehlt sich der Nachweis tierischer Verunreinigung mit Hilfe des Filth-Testes, um nachteilige Einflüsse bei der Gewinnung und Herstellung von Eiprodukten erfassen zu können.

6. SUMMARY

In this study an attempt has been made to estimate the hygienic condition of liquid egg products before pasteurization using various parameters in order to objectively characterize the suitability for further processing. Because 76 samples from the market were drawn in spring, early summer and midsummer, it was possible to consider not only the influence of the products egg white or whole egg and of three different factories but also as a third factor the effect of weather on the quality of the product. Besides the sensory evaluation and the bacterial counts on different selective mediums the examination included the determination of pH-value, uric acid concentration, and content of animal impurities (filth-test). For the enzymatic analysis for uric acid and the identification of insect fragments, hair and feather particles and egg shell residues, the published methods had to be adapted and modified in extensive experiments.

The results of the examination led to the following conclusions:

1. The total bacterial count correlates best with the three factors sort of product, place of manufacture, and climatic conditions and offers therefore a suitable criterion for the hygienic condition. Of the other microorganisms lactobacilli (La-Agar) as well as Enterobacteriaceae likewise possess excellent indicator-properties, whereas Pseudomonadaceae only moderate ones, micrococci and enterococci rather bad ones. Whole egg with a total bacterial count of $\geq 10^8/g$ is sometimes spoiled, while the bacterial counts of egg white do not exceed $10^6/g$.

2. The development of pH-values of egg white and whole egg diverges distinctly. With increasing density of bacteria the pH-value of egg white increases from about 9.1 to 9.3,

whereas the pH-value of whole egg - in some cases followed by sensory deviations - drops from 7.6 to about 7.2 . These fluctuations in concentration of hydrogen ions can be used for quality control of whole egg, as a pH-value of 7.2 indicates the risk of bacterial spoilage.

3. The uric acid concentration, which is usually considered as an indicator for impurities with bird excrement as well as with end products of metabolism of insects, offers little conclusive evidence. There exists only a difference between the products egg white and whole egg with a normal range of 0.92 - 0.96 respectively 1.04 - 1.14 mg uric acid/100 g material.

4. Among the results of the filth-test the frequent contamination with egg shell residues is remarkable. They could be found in 80.3% of all liquid egg samples examined, whereas insect fragments as well as feather barbules including small hair particles were detected only in few cases.

All the results confirm the conception of the Eiprodukte-VO in so far as both prescribed criteria for the examination of pasteurized product - total bacterial and Enterobacteriaceae count - are also useful for the characterization of the hygienic status of whole egg and egg white before pasteurization. Whole egg, which is especially susceptible to spoilage, should only be processed further when the total bacterial count is below 10^8/g and the pH-value exceeds a limit of 7.2 . Additionally, the identification of animal impurities using the filth-test is advisable to assess adverse effects for the production and manufacture of egg products.

7. LITERATURÜBERSICHT

ALDERTON, G., W. H. WARD und H. L. FEVOLD (1946)
Identification of the bacteria inhibiting, iron-binding protein of egg white as conalbumen
Arch. Biochem. 11, 9

ALFORD, L. R., N. E. HOLMES, W. J. SCOTT und J. R. VICKERY (1950)
Studies on the preservation of shell eggs.I. The nature of wastage in Australian export eggs
Aust. J. appl. Sci. 1, 208

ARTAULT, S. (1894)
Recherches bacteriologiques, mycologiques, zoologiques et medicales sur l'oeuf de poule
Zbl. Bakt. (Abt. 1) 16, 461

D'AUBERT, S. (1981)
Pseudomonas and foods
Industrie Alimentari 20, 271

AYRES, J. C. (1958)
Methods for depleting glucose from egg albumen before drying
Food Technol. 12, 186

AYRES, J. C. (1960)
The relationship of organisms of the genus Pseudomonas to the spoilage of meat, poultry and eggs
J. appl. Bact. 23, 471

BAKER, J. R. und D. A. BALCH (1962)
A study of the organic material of hen's egg shell
Biochem. J. 82, 352

BALCH, D. A. und C. TYLER (1964)
Variation in some shell membrane characteristics over different parts of the same shell
Br. Poult. Sci. 5, 201

BALDWIN, R. R., A. CAMPBELL, R. THIESSEN und G. J. LORANT (1953)
The use of glucose oxidase in the processing of foods with special emphasis on the desugaring of egg white
Food Technol. 7, 275

BARNES, E. M. und J. E. L. CORRY (1969)
Microbial flora of raw and pasteurized egg albumen
J. appl. Bact. 32, 193

BAUR, E. (1976)
Ein Beitrag zum Keimgehalt von frischen Hühnereiern
Fleischwirtschaft 56, 1237

BELL, D. J. (1971)
Non-protein nitrogen and its fractions in plasma and erythrocytes. In: Physiology and Biochemistry of the domestic fowl. Band II, S. 921
Academic Press London, New York

BERDING, H. H. (1970)
Experimentelle und epidemiologische Untersuchungen zur Frage des Salmonellen-Transportes durch den Vogelzug
Hannover, Tierärztl. Hochsch., Diss.

BERGMEYER, H. U. (1974)
Methoden der enzymatischen Analyse. Band I und II
Verlag Chemie, Weinheim/Bergstrasse

BERGQUIST, D. H. (1979)
Sanitary processing of egg products
J. Food Protect. 42, 591

BERNAERTS, M. J. (1963)
Het belang van het filthonderzoek in levensmiddelen
Conserva 12, 95

BHARGAVA, D. N., U. MANDOKHOT, R. S. PANGHAL, K. G. NARYAN und I. P. SINGH (1975)
Quantitative and qualitative microflora on the poultry egg shell surface
Indian J. Poult. Sci. 10, 19

BOARD, R. G. (1964)
The growth of gram-negative bacteria in the hen's egg
J. appl. Bact. 27, 350

BOARD, R. G. (1965)
The properties and classification of the predominant bacteria occuring in rotten eggs
J. appl. Bact. 28, 437

BOARD, R. G. (1966)
The course of microbial infection of the hen's egg
J. appl. Bact. 29, 319

BOARD, R. G. (1969)
The microbiology of the hen's egg
Adv. appl. Microbiol. 11, 245

BOARD, R. G. (1977)
The microbiology of eggs. In: W. J. STADELMAN und O. J. COTTERIL (Hrsg.): Egg science and technology; S. 49
AVI Publishing Co., Inc., Westport, Connecticut

BOARD, R. G. und J. C. AYRES (1965)
Influence of temperature on bacterial infection of the hen's egg
Appl. Microbiol. 13, 358

BOARD, R. G. und N. A. HALLS (1973)
The effect of iron on the growth of Escherichia coli in albumen taken from the hen's egg
Br. Poult. Sci. 14, 359

BOARD, R. G., S. LOSEBY und V. R. MILES (1979)
A note on microbial growth on hen egg-shells
Br. Poult. Sci. 20, 413

DE BOECK, S., J. STOCKX und D. G. DAVIES (1970)
Purine and pyrimidine derivates in the hen's egg
Naturwissenschaften 57, 91

BOEHRINGER-Mannheim (1980)
Methoden der enzymatischen Lebensmittelanalytik
Hrsg.: Boehringer Mannheim GmbH

BOEHRINGER-Mannheim (1981)
Testfibel: Peridochrom und CBR-Programm Harnsäure
Hrsg.: Boehringer Mannheim GmbH

BOORMAN, K. N. und D. LEWIS (1971)
Protein metabolism. In: Physiology and Biochemistry of the domestic fowl. Band I, S. 339
Academic Press London, New York

BRAG, H. (1982)
Enterococci in food. Are they of importance?
Svensk Veterinartidning 34, 101

BRANT, A. W. und P. B. STARR (1962)
Some physical factors related to egg spoilage
Poult. Sci. 41, 1468

BRENDL, J. und S. KLEIN (1976)
Some natural substances in egg white as components of the antimicrobial barrier in the egg
Prumysl Potravin 27, 467

BRICKEY, P. M. jr. (1978)
Report on extraneous materials in foods and drugs
J. Assoc. Off. Anal. Chem. 61, 373

BRICKEY, P. M. jr., J. S. GECAN, J. J. TRASHER und W. EISENBERG (1968)
Notes on microanalytical techniques in the analysis of food for extraneous materials.I.
J. Assoc. Off. Anal. Chem. 51, 872

BROOKS, J. und D. I. TAYLOR (1955)
Eggs and egg products
Spec. Rep. Food Invest. Bd. No. 60, H.M.S.O., London

BROWN, W. E., R. C. BAKER und H. B. NAYLOR (1965)
The role of the inner shell membrane in bacterial penetration of chicken eggs
Poult. Sci. 44, 1323

BROWN, W. E., R. C. BAKER und H. B. NAYLOR (1966 a)
Shell treatment as affecting microbial egg spoilage
Poult. Sci. 45, 276

BROWN, W. E., R. C. BAKER und H. B. NAYLOR (1966 b)
Egg spoilage as affected by the route of exposure
Poult. Sci. 45, 279

BUCHANAN, J. M. (1973)
The amidotransferases
Adv. Enzymol. 39, 91

BULYCHEV, O. A., V. A. STEPANOV und A. L. KOZLOVA (1976)
Effect of thermal processing on the sanitary and bacteriological quality of eggs
Trudy, Vsesoyuznyi Nauchno-issledovatel'skii Institut Myasnoi Promyshlennosti 20, 87

BUSHNELL, L. D. und O. MAURER (1914)
Some factors influencing the bacterial content and keeping quality of eggs
Kansas Ag. Expt. Sta. Bull. 201

BUSS, C. D. (1958)
Method for fly egg counts in tomato products
Food Technol. 12, 391

CARLIN, A. F. und J. C. AYRES (1953)
Effect of the removal of glucose by enzyme treatment on the whipping properties of dried albumen
Food Technol. 7, 268

CHANG, P. K. (1973)
Effect of polyphosphates on the functional properties of spray-dried egg albumen
J. Food Sci. 38, 239

CHRISTENSEN, C. M. (1962)
Lagerschäden durch Pilzbefall bei Getreide
Getreide u. Mehl 12, 78

CHRISTIE, A. B. (1980)
Infections Diseases. In: Epidemiology and Clinical Practice. 3rd edn.
Churchill Livingstone, Edinburgh

COTTERILL, O. J. und J. GLAUERT (1969)
Thermal resistance of Salmonellae in egg yolk products containing sugar or salt
Poult. Sci. 48, 1156

CUMMINGS, D. H. (1972)
Situation and outlook report
Market review, 9. Internat. egg commission, London
Zit. Kiefer (1976)

DAVIS, G. (1969)
Microbiological standards for foods. Parts I and II.
Lab. Practice 18, 749 und 764; 839 und 854

DELMER, M. (1981)
Classification and properties of eggs and egg products in industrial manufacture of pastry products
Revue des Industries de la Biscuiterie, Biscotterie, Chocolaterie, Confiserie 43, 5, 7 und 11

DÖHRING, E. (1967)
Schädlingsbekämpfung in Krankenhäusern
Bundesgesundheitsbl. 10, 17

DÖHRING, E. (1972)
Aktuelle Probleme der Schädlingsbekämpfung in Krankenanstalten und Nahrungsmittelbetrieben
Wass.-Boden-Lufthyg. 38, 347

DÖRING, U. (1976 a)
Färbungen zum Nachweis tierischer Verunreinigungen in Rohwaren
Berlin, Tech. Univ., Fachber. Lebensmitteltechnol., Diss.

DÖRING, U. (1976 b)
Zur Methodik des "Filth-Testes"
Lebensmittelch. Gerichtl. Chem. 30, 220

DÖRING, U. und H. J. BIELIG (1972)
Eine Färbung zur schnelleren und leichteren Identifizierung kleiner Haar- und Federpartikel in Nahrungsmitteln
Gordian 72, 381

DÖRING, U. und H. J. BIELIG (1974)
Identifizierung von Insektenfragmenten, Färbung in Kakao und Zimt
Gordian 74, 362

DÖRING, U. und H. J. BIELIG (1978)
Differenzierte Färbung von Haaren und Federn in Lebensmitteln
Gordian 78, 244

DONOVAN, J. W., R. A. BEARDSLEE und K. D. ROSS (1976)
Formation of monoferric ovotransferrins in the presence of chelates
Biochem. J. 153, 631

DUGGAN, R. E. (1946)
The estimation of chicken manure in egg products from their uric acid content
J. Assoc. Off. Anal. Chem. 29, 76

EAKIN, R. E., E. E. SNELL und R. J. WILLIAMS (1940)
A constituent of raw egg white capable of inactivating biotin in vitro
J. Biol. Chem. 136, 801

ELLIOTT, R. P. (1954)
Spoilage of shell eggs by pseudomonads
Appl. Microbiol. 2, 158

ELLIOTT, R. P., R. P. STRAKA und J. A. GARIBALDI (1964)
Polyphosphate inhibition of growth of pseudomonads from poultry meat
Appl. Microbiol. 12, 517

ENTHOVEN, W. (1980)
Worldwide standards needed for egg products
Poult. Internat. 19, 34

FARRELL, J. und A. H. ROSE (1968)
Cold shock in a mesophilic and a psychrophilic Pseudomonad
J. Gen. Microbiol. 50, 429

FAZEKAS, S. und G. DENES (1966)
Acta biochim. biophys. Acad. Sci. Hung. 1, 45
Zit. Boorman und Lewis (1971)

FEENEY, R. E., E. D. DUCAY, R. S. SILVA und C. R. McDONNELL (1952)
Chemistry of shell egg deterioration: The egg white proteins
Poult. Sci. 31, 639

FEENEY, R. E. und D. A. NAGY (1952)
The antibacterial activity of the egg white protein conalbumin
J. Bact. 64, 629

FIELDS, M. L. (1979)
Microbiology of eggs and egg products. In: Fundamentals of Food Microbiology; S. 142
AVI Publishing Co., Inc., Westport, Connecticut

FLORIAN, M. L. E. und P. C. TRUSSEL (1957)
Bacterial spoilage of eggs.IV. Identification of spoilage organisms
Food Technol. 11, 56

FORSYTHE, R. H. (1968)
The science and technology of egg products manufacture in the united states. In: Egg quality: The study of the hen's egg; S. 262
Oliver und Boyd, Edinburgh

FORSYTHE, R. H. (1970 a)
Current practice in further processed eggs
Food Product Development 4, 28, 30, 32, 36

FORSYTHE, R. H. (1970 b)
Egg processing technology - progress and sanitation programmes
J. Milk Food Technol. 33, 64

FORSYTHE, R. H. und D. H. BERGQUIST (1973)
Functionality of eggs in the modern bakery
Baker's Digest 47, 84, 90, 131

FORSYTHE, R. H., W. J. ROSS und J. C. AYRES (1967)
Salmonellae recovery following gastro-intestinal and ovarian inoculation in the domestic fowl
Poult. Sci. 46, 849

FRAENKEL-CONRAT, H. L. und R. E. FEENEY (1950)
The metal binding activity of conalbumin
Arch. Biochem. 29, 101

FRITZSCHE, K. und M. S. A. M. ALLAM (1965)
Ein Beitrag zur Frage der Kontamination der Hühnereier mit Mykobakterien
Arch. Lebensmittelhyg. 16, 248

FROMM, D. (1963)
Permeability of the hen's egg shell
Poult. Sci. 42, 1271

FUCHS, M. E. A. (1972)
Zur epidemiologischen Bedeutung von Schaben als Vektoren von Krankheitserregern
Der prakt. Schädlingsbekämpfer 24, 35

GARIBALDI, J. A. (1960)
Factors in egg white which control growth of bacteria
Food Res. 25, 337

GARIBALDI, J. A. (1970)
Role of microbial iron transport compounds in the bacterial spoilage of eggs
Appl. Microbiol. 20, 558

GARIBALDI, J. A. und J. L. STOKES (1958)
Protective role of shell membranes in bacterial spoilage of eggs
Food Res. 23, 283

GARIBALDI, J. A., H. LINEWEAVER und K. IJICHI (1968)
Number of Salomellae in commercially broken eggs before pasteurization
Poult. Sci. 48, 1096

GECAN, J. S. und P. ALIOTO (1973)
Collaborative study of an enzymatic digestion method for the isolation of light filth from fresh pork sausage
J. Assoc. Off. Anal. Chem. 56, 631

GEOFFREY, P. und C. J. BAILEY (1975)
The action of hen and goose lysozyme on the cell wall peptidoglycan of Micrococcus lysodeikticus
Biochem. Soc. Trans. 3, 1212

GESCHE, E. und A. M. SCHULER (1979)
Bacterial flora of fresh eggs and eggs stored for four weeks
Alimentos 4, 11

GHONIEM, N. A. M. (1972)
Viability of some Salmonella strains in whole egg, egg yolk and egg white during storage under different temperatures
Arch. Lebensmittelhyg. 23, 198

GIANNINOTO, S. I. und G. PERILLO (1977)
Liquid and dried eggs in the food industry
Industrie Alimentari 16, 81

GIBBONS, N. E. , R. L. MOORE und C. O. FULTON (1944)
Dried whole egg powder XV. The growth of Salmonella and other organisms in liquid and reconstituted egg
Can. J. Res. 22, 169

GILBERT, A. B. (1971 a)
Egg albumen and its formation. In: Physiology and Biochemistry of the domestic fowl. Vol. 3, S. 1291
Academic Press, London, New York

GILBERT, A. B. (1971 b)
The egg: its physical and chemical aspects. In: Physiology and Biochemistry of the domestic fowl, Vol. 3, S. 1379
Academic Press, London, New York

GILL, C. O. und K. G. NEWTON (1977)
The development of aerobic spoilage flora on meat stored at chill temperatures
J. appl. Bact. 43, 189

GILLESPIE, J. M. und W. J. SCOTT (1950)
Studies in the preservation of shell eggs.IV. Experiments on the mode of infection by bacteria
Aust. J. appl. Sci. 1, 514

GIOLITTI, G. (1973)
The function of hygiene in the food industry and its effect on the finished product
Birra e Malto 20, 167

GIOLITTI, G. (1979)
Importance of the microbiological quality of raw materials to the wholesomeness of preserved food. In: B. JARVIS, J. H. B. CHRISTIAN und H. D. MICHENER (Hrsg.): Food microbiology and technology; S. 369
Stazione Sperimentale per l'Industria delle Conserve Alimentari

GORDON, A. (1971)
Egg products.I. Processing technology.II. Applied and basic studies
Food Processing Industry 40, 27, 50

GORDON, A. (1972)
Egg products technology.I and II.
Food Processing Industry 41, 35, 39

GORDON, R. F. und J. F. TUCKER (1965)
The epizootology of Salmonella menston infection of fowls and the effect of feeding poultry food artificially infected with Salmonella
Br. Poult. Sci. 6, 251

GREENBERG, D. M. (1970)
Metabolic Pathways. Bd. IV.
Academic Press, New York

GRZIMEK, B. und F. PUSCH (1969)
Das Eierbuch. 7. Aufl.
Verlag Fritz Pfenningstorff, Berlin, Stuttgart

GUILBOT, A. und R. GUILLEMET (1951)
La pollution des produits agricoles et alimentaires.I. Origine et modes de detection.II. Importance et moyens de prevention
Industr. agr. alim., 459; 563

GUTHRIE, R. K. (1980)
Food Sanitation. 2nd Edition
AVI Publishing Co., Inc., Westport, Connecticut

HADLEY, P. B. und D. W. CALDWELL (1916)
The bacterial infection of fresh eggs
Rhode Island Agric. Expt. Sta. Bull. No. 164, 1

HADORN, H. und K. ZORCHER (1973)
Der Scheidetrichter, ein mangelhaftes Gerät im analytischen Labor
Gordian 73, 198

HAINES, R. B. (1938)
Observations on the bacterial flora of the hen's egg with a description of new species of Proteus and Pseudomonas causing rot in eggs
J. Hyg. 38, 338

HAINES, R. B. (1939)
Microbiology in the preservation of hen's egg
Rep. Food Invest. Bd. 47, H.M.S.O., London

HAINES, R. B. und T. MORAN (1940)
Porosity of and bacterial invasion through the shell of the hen's egg
J. Hyg. 40, 453

HAMPEL, G. (1952)
Neue Methoden zum Nachweis von Verunreinigungen tierischer Herkunft in Getreideerzeugnissen
Getreide u. Mehl 11, 117

HAMPEL, G. (1956)
Beobachtungen beim Nachweis von Filth in Mehlen und Gebäck
Getreide u. Mehl 1, 5

HAMPEL, G. (1965)
Nachweis von tierischen Verunreinigungen
Dtsche. Müller-Ztg. 4, 73

HAMPEL, G. (1970)
Über die "Filth"-Untersuchung
Mühle u. Mischfuttertechn. 107, 765

HAMPEL, G. (1971)
Über die "Filth"-Untersuchung
Getreide u. Mehl 5, 49

HANSSEN, E. (1954)
Über den "Filth"-Test
Z. Lebensmittel-Unters. u. Forsch. 98, 405

HANSSEN, E., W. ULRICH und I. SCHEWITZ (1971)
Über den Nachweis von tierischen Verunreinigungen ("Filth") an Früchten, ungemahlenen Gewürzen, in kandierten und zuckerreichen Fruchtzubereitungen, Sirupen, Zucker und Salzen
Z. Lebensmittel-Unters. u. Forsch. 145, 158

HARA, S. und Y. MATSUSHIMA (1967)
Studies on the substrate specificity of egg white lysozyme. 1. The N-acyl substituents in the substrate mucopolysaccharides
J. Biochem. 62, 118

HARMS, H. (1965)
Keratine. In: Handbuch der Farbstoffe für die Mikroskopie. Bd. I, S. 141
Staufenverlag, Kamp-Lintfort

HARPER, H. A., G. LÖFFLER, P. E. PETRIDES und L. WEISS (1975)
Physiologische Chemie
Springer-Verlag, Berlin, Heidelberg, New York

HARRIS, K. L. (1941)
Foreign matter in corn meal
Cereal Chem. 18, 655

HARRY, E. G. (1957)
The effect on embryonic and chick mortality of yolk contamination with bacteria from the hen
Vet. Rec. 69, 1433

HARRY, E. G. (1963 a)
Some observations on the bacterial content of the ovary and oviduct of the fowl
Br. Poult. Sci. 4, 63

HARRY, E. G. (1963 b)
The relationship between egg spoilage and the environment of the egg when laid
Br. Poult. Sci. 4, 91

HARTMAN, S. C. (1963)
Phosphoribosyl pyrophosphate amidotransferase
J. biol. Chem. 238, 3024

HARTUNG, T. E. und W. J. STADELMAN (1963)
Pseudomonas fluorescens penetration of egg shell membranes as influenced by shell porosity, age of eggs and degree of bacterial challange
Poult. Sci. 42, 147

HAYS, F. A. und A. H. SUMBARDO (1927)
Physical characters of eggs in relation to hatchability
Poult. Sci. 6, 196

HEDDERGOTT, H. (1969)
Schädlingsbefall an Dauerbackwaren
Süßwaren 2, 89

HEINRICH, G. (1921)
Beiträge zur Kenntnis der Durchlässigkeit unverletzter Hühnereier für Bakterien
Berlin, Tierärztl. Hochsch., Diss.

HEISS, R. (1980)
Verpackung von Lebensmitteln
Springer-Verlag, Berlin, Heidelberg, New York
Zit. Kiermeier (1981)

HERRMANN, J. (1963)
Lehrbuch der Vorratspflege
VEB Deutscher Landwirtschaftsverlag, Berlin
Zit. Kiermeier (1981)

HILLIG, F., A. P. DUNNIGAN, W. HORWITZ und L. L. WARDEN (1960)
Authentic packs of edible and inedible frozen eggs and their organoleptic, bacteriological, and chemical examination
J. Assoc. Off. Agric. Chem. 43, 108

HINTON, H. R. (1968)
Storage of eggs. In: Egg quality: The study of the hen's egg; S. 251
Oliver and Boyd, Edinburgh

HINSHAW, W. R. und E. McNEIL (1940)
Salmonella infection as a food industry problem
Adv. Food Res. 3, 209

HINSHAW, W. R. und T. S. TAYLOR (1933)
A chronic carrier of fowl typhoid of turkeys
J. Am. Vet. Med. Assoc. 82, 922

HOFFMANN, P., F. HÖRCHER und R. WOLL-JOHN (1960)
Einschleppung seltener Salmonellen durch importierte Geflügelfedern
Zbl. Bact. I. Orig. 178, 484

HOLMES, L. G. (1980)
Note on fluorometric method for determination of uric acid in flour
Cereal Chem. 57, 371

HOROWITZ, A. (1903)
Contribution a` l' étude des moyens de defense de l'organisme contre l'invasion microbienne; recherche sur l'oviducte de la poule et le blanc d'oeuf (Thèse) Paris 1902
Referat in Baumgarten's Jahresbericht 19, 984

HORWITZ, W. (1980)
Official methods of analysis of the association of official analytical chemists. Thirteenth Edition, S. 275, 780, 794, 814, 823
Assoc. Off. Analyt. Chem., Washington

IMAI, C. (1978)
Some behaviours of enterococci isolated from dried egg whites
Poult. Sci. 57, 134

IMAI, C. (1980)
Behaviour of enterococci in egg processing operations
Poult. Sci. 59, 1767

IMURA, S. und Y. NONAMI (1972)
Studies on nucleic acid derivates in eggs
J. Agricult. Chem. Soc. Jap. 46, 163

JANSSEN, H. J. L. (1971)
Applications of egg products in the food industry
Voedingsmiddelentechnologie 2, 6

JOHNS, C. K. (1944)
Microbiological aspects of egg powder
Sci. Agr. 24, 373

KAESS, G. (1960)
Eier. In: R. PLANK (Hrsg.): Handbuch der Kältetechnik. Bd. 10, S. 264
Springer-Verlag, Berlin, Göttingen, Heidelberg

KARLSON, P. (1980)
Biochemie. 11. Aufl.
Georg Thieme Verlag, Stuttgart, New York

KIEFER, H. (1976)
Mikrobiologie der Eier und Eiprodukte
Arch. Lebensmittelhyg. 27, 218

KIELWEIN, G. (1969)
Ein Nährboden zur selektiven Züchtung von Pseudomonaden und Aeromonaden
Arch. Lebensmittelhyg. 20, 131

KIELWEIN, G. (1971 a)
Pseudomonaden und Aeromonaden in Trinkmilch; ihr Nachweis und ihre Bewertung
Arch. Lebensmittelhyg. 22, 15

KIELWEIN, G. (1971 b)
Die Isolierung und Differenzierung von Pseudomonaden aus Lebensmitteln
Arch. Lebensmittelhyg. 22, 29

KIERMEIER, F. (1981)
Zum Vorkommen von Schmutz in Lebensmitteln
Z. Lebensmittel-Unters. u. Forsch. 173, 121

KINNER, J. A. und W. A. MOATS (1981)
Effect of temperature, pH and detergent on survival of bacteria associated with shell eggs
Poult. Sci. 60, 761

KOCH, M. und L. RABINOWITSCH (1907)
Die Tuberkulose der Vögel und ihre Beziehungen zur Säugetiertuberkulose
Virchows Archiv 190 (Beiheft), 246
Zit. Rahman (1968)

KÖNIGSMANN, R. (1978)
Vergleichende Untersuchungen über die Eignung der Fernsehbildanalyse zum quantitativen Knochennachweis in Fleischerzeugnissen
Berlin, Freie Univ., Fachber. Veterinärmed., Diss.

KOHL, W. F. (1971)
A new process for pasteurizing egg whites
Food Technol. 25, 1176

KOLB, E. (1980)
Die Nichteiweiß-N-Verbindungen des Blutplasmas. In: Biochemie und Pathobiochemie der Haustiere; S. 303
S. Hirzel Verlag, Leipzig

KONECNY, S. (1971)
Study of microbial and chemical indices in nonpasteurized egg contents
Hydinarsky Priemysel 13, 175

KOPPLOW, E. (1952)
Die hygienische Bedeutung des Keimgehaltes von Gewürzen für die Wurst- und Fleischwarenherstellung
Z. f. Hyg. 135, 396

KOROTKOVA, G. P. (1957)
Antibiotic properties of chicken egg albumen
J. gen. Chem. U.S.S.R. 17, 275

KOSSA v., - (1901)
Nachweis von Kalk
Ziegl. Beitr. 29, 163
Zit. Romeis (1968)

KRAFT, A. A., E. H. McNALLY und A. W. Brant (1958)
Shell quality and bacterial infection of shell eggs
Poult. Sci. 37, 638

KRAFT, A. A., G. S. TORREY, J. C. AYRES und R. H. FORSYTHE (1967)
Factors influencing bacterial contamination of commercially produced liquid egg
Poult. Sci. 46, 1204

KUKULINSKY-FULLER, J. C. und F. E. NELSON (1977)
Enumeration of temperature-stressed Pseudomonas aeruginosa utilizing selective procedures
J. Food Sci. 42, 415

LAESSIG, R. H., W. E. BURKHOLDER und R. J. BADRAN (1972)
Routine and low-level determination of uric acid in dry milk, flours, and cereal grains
Cereal Sci. Today 17, 328

LANDON, E. J. und C. E. CARTER (1960)
The preparation, properties, and inhibition of hypoxanthine dehydrogenase of avian kidney
J. biol. Chem. 235, 819

LANGE, R. (1907)
Über das Eindringen von Bakterien in das Hühnerei durch die Eischale
Arch. Hyg. 62, 201

LEHNINGER, A. L. (1977)
Biochemie. 2. Aufl.
Verlag Chemie, Weinheim, New York

LEPPER, H. A., M. T. BARTRAM und F. HILLIG (1956)
Authentic packs of edible and inedible frozen eggs and their organoleptic, bacteriological, and chemical examination
J. Assoc. Off. Agric. Chem. 39, 185

LERCHE, M., -. GOERTTLER und -. RIEVEL (1957)
Lehrbuch der tierärztlichen Lebensmittelüberwachung. 3. Aufl.
M. u. H. Schaper Verlag, Hannover

LIFSHITZ, A., R. C. BAKER und H. B. NAYLOR (1964)
The relative importance of chicken egg exterior structures in resisting bacterial penetration
J. Food Sci. 29, 94

LITTMANN, S. (1981)
Über eine chemisch-analytische Methode zur Beurteilung des hygienischen Zustandes von Eiprodukten vor der Pasteurisierung
Münster, Univ., Fachber. Chemie, Diss.

LOPEZ de HERRERA, A. I. und L. G. MANRIQUE (1977)
Bacterial counts and identification in eggs
Revta. Inst. Colomb. Agropecu. 12, 489

LORENZ, F. W., P. B. STARR, M. P. STARR und F. X. OGASAWARA (1952)
The development of Pseudomonas spoilage in shell eggs.I. Penetration through the shell
Food Res. 17, 351

LUKASKOVA, J., L. LOJDA und M. LABOUNEK (1976)
Staphylococci in eggs and some egg products
Prumysl Potravin 27, 170

MAES, E. E. A. und G. P. PEETERS (1959)
Probleme der Filth-Prüfung in Mehl
Die Mühle 96, 221

MACKENZIE, K. A. und V. B. D. SKERMAN (1982)
Microbial spoilage in unpasteurized liquid whole egg
Food Technol. Austr. 34, 524

MARIN, G. (1979)
Production of egg paste and dried eggs
Revista de Cresterea Animalelor 29, 41

MASSHOFF, W. und H. J. STOLPMANN (1961)
Licht- und elektronenmikroskopische Untersuchungen an der Schalenhaut und Kalkschale des Hühnereies
Z. Zellforsch. 55, 818

MATTHES, S. und J. HANSCHKE (1977)
Experimentelle Untersuchungen zur Übertragung von Bakterien über das Hühnerei
Berl. Münch. tierärztl. Wochenschr. 90, 200

MAYES, F. J. und M. A. TAKEBALLI (1983)
Microbial contamination of the hen's egg; a review
J. Food Protect. 46, 1092

McFARLANE, V. H., A. J. WATSON und H. E. GORESLINE (1945)
Microbiological control in the production of spray dried whole egg powder
U.S. Egg Poultry Mag. 51, 250, 270, 275, 279, 364, 368

McFARLANE, V. H., A. J. WATSON, R. R. SUTTON und W. KURMAN (1947)
Microbiology of spray dried whole egg. I. Plate and direct counts
Food Res. 12, 311

McLAURY, D. W. und A. B. MORAN (1959)
Bacterial contamination of hatching eggs
Kentucky Agric. Expt. St. Bull. 657, 3

MEEHAN, J. J., T. F. SUGIHARA und L. KLINE (1962)
Relationships between shell egg handling factors and egg product properties
Poult. Sci. 41, 892

MILATOVIC, L. (1964 a)
Analysen zur Einheitsbestimmung von Getreide und Mehl, Teil I
Die Müllerei 5, 58

MILATOVIC, A. (1964 b)
Mikrobiologische Qualitätsbeherrschung von Getreide und Mehl, Teil II
Die Mühle 11, 150

MILLER, W. A. und L. B. CRAWFORD (1953)
Some factors influencing bacterial population of eggs
Poult. Sci. 32, 303

MLODECKI, H., W. LASOTA und T. PUSTELNIK (1972)
Uric acid as an index of sanitary quality for dried mushrooms
Bromat. Chem. Toksykol. 5, 487

MOATS, W. A. (1980)
Classification of bacteria from commercial egg washers and washed and unwashed eggs
Appl. Environ. Microbiol. 40, 710

MOHLER, -. und -. WASHBURN (1909)
Übertragung der Vogeltuberkulose auf Menschen. Bericht über den 9. Internat. Tierärztl. Kongreß in Den Haag 1909
Sektionssitzung, 9, 3
Zit. Rahman (1968)

MOHS, H. J. (1975)
Schnelle mikrobiologische Nachweismethoden in der Lebensmittelindustrie
Fleischwirtschaft 55, 51

MORAN, T. und M.P. HALE (1936)
Physics of the hen's egg. 1. Membranes in the egg.
J. Exp. Biol. 13, 35

MORAN, T. und R. B. HAINES (1938)
The porosity of the shell of the hen's egg
Dept. Sci. Ind. Res. (Britain) Reports.
Food Investigation Board Reports No. 39 - 41
Zit. Rahman (1968)

MOSSEL, D. A. A., I. EELDERINK, M. KOOPMAN und F. VAN ROSSEM (1978)
Optimalisation of a Mac Conkey - type medium for the enumeration of Enterobacteriaceae
Lab. Practice 27, 1049

MULDER, R. W. A. W. und M. C. VAN DER HULST (1973)
The microflora of liquid whole egg made from incubator reject eggs
J. app. Bact. 36, 157

NEEDHAM, J. (1931)
Chemical Embryology
University Press, Cambridge
Zit. Rauch (1968)

NG, H. und J. A. GARIBALDI (1975)
Death of Staphylococcus aureus in liquid whole egg near pH 8
Appl. Microbiol. 29, 782

NIELSEN, B. (1981)
Complete processlines for egg-powder production
Nordeuropaeisk Mejeri-Tidsskrift 47, 45

NORTH, M. O. (1978)
Commercial chicken production manual
AVI Publishing Co., Inc., Westport, Connecticut

OREL, V. (1959)
The Pseudomonas spoilage of eggs laid by individual hens
Poult. Sci. 38, 8

OTTOGALLI, G., A. GALLI und G. RONDININI (1982)
Microbiological tests and tests for extraneous substances in dried milk for infant feeding
Rivista Soc. Ital. Scie. Aliment. 11, 59

PACHLA, L. A. und P. T. KISSINGER (1977)
Monitoring insect infestation in cereal products - determination of traces of uric acid by high-pressure liquid chromatography
Anal. Chim. Acta 88, 385

PARRY, A. E. J., D. S. ROBINSON und B. L. WEDZICHA (1980)
An enzymic assay for ß-hydroyxbutyric acid in liquid whole egg
J. Sci. Food Agric. 31, 905

PAUL, M. E. und N. N. POTTER (1978)
Bacterial growth in whole egg and egg substitutes including inoculation with Staphylococcus aureus and Clostridium perfringens
J. Food Sci. 43, 803

PEETERS, G. P. (1953)
Die heutige Lage der Filth-Test-Prüfung in Belgien
Brot u. Gebäck 6, 100

PENNISTON, V. und L. R. HEDRICK (1947)
The reduction of bacterial count in egg pulp by use of germicides in washing dirty eggs
Food Technol. 1, 240

PIXTON, S. W. (1965)
Detection of insect infestations in cereals by measurement of uric acid
Cereal Chem. 42, 315

POPPE, K. (1910)
Zur Frage der Übertragung von Krankheitserregern durch Hühnereier. Zugleich ein Beitrag zur Bakteriologie des normalen Eies
Arb. Kaiserl. Gesundh. (Berlin) 34, 186

POWRIE, W. D. (1973)
Chemistry of eggs and egg products. In: W. J. STADELMAN und O. J. COTTERIL (Hrsg.): Egg science and technology. 2nd Edition
AVI Publishing Co., Inc., Westport, Connecticut

RAHMAN, M. M. (1968)
Untersuchungen über die Beeinflussung des Keimgehaltes von maschinell gewonnenen Eiprodukten
Hannover, Tierärztl. Hochsch., Diss.

RAUCH, W. (1968)
Eier. In: Handbuch der Lebensmittelchemie. Bd. III, Teil 2, S. 879
Springer-Verlag, Berlin, Heidelberg, New York

REDFIELD, H. W. (1920)
Examination of frozen eggs and interpretation of results
U.S. Dept. Agr. Bull. 846
Zit. Rahman (1968)

REID, W. M., T. A. MACY, F. M. BOYD, A. L. KLECKNER und S. C. SCHMITTLE (1961)
Embryo and baby chick mortality and morbidity induced by a strain of Escherichia coli
Poult. Sci. 40, 1497

RETTGER, L. F. (1913)
The bacteriology of the hen's egg with special reference to its freedom from microbic invasion
Storrs Agr. Expt. Sta. Bull. 75, 191

REUTER, G. (1968)
Erfahrungen mit Nährböden für die selektive mikrobiologische Analyse von Fleischerzeugnissen
Arch. Lebensmittelhyg. 19, 53 u. 84

REUTER, G. (1970)
Mikrobiologische Analyse von Lebensmitteln mit selektiven Medien
Arch. Lebensmittelhyg. 21, 30

RICHARD, V. O. und A. MOHLER (1950)
Die Mikrobiologie der Hühnereier
Mitt. Lebensm. Hyg. (Bern) 41, 168

RICHERT, D. A. und W. W. WESTERFELD (1951)
Proc. Soc. exp. Biol. Med. 76, 252
Zit. Boorman und Lewis (1971)

RIETH, H. (1973)
Humanpathogene Hefen und Schimmelpilze in Lebens- und Futtermitteln
Chem. Rundschau (Solothurn) 26, 29

ROMANKEWITSCH, N. A. (1932)
Die biomorphologischen Besonderheiten der Struktur der Membrana testae des Hühnereies
Z. Zellforsch. Mikroskop. Anat. 16, 208

ROMANOFF, A. L. und A. J. ROMANOFF (1963)
The avian egg
John Wiley and Sons Inc., New York

ROMEIS, B. (1968)
Mikroskopische Technik. 16. Aufl.
R. Oldenbourg Verlag, München, Wien

ROOS, O. (1949)
Gesundheitsschädlichkeit der in den Getreideerzeugnissen verbleibenden toten Schädlinge und Ekremente
Getreide, Mehl u. Brot 15/16, 152

ROSSER, F. T. (1942)
Preservation of eggs. II. Surface contamination of egg shell in relation to spoilage
Can. J. Res. D. 20, 291

ROTSCH, A. und A. MENGER (1967)
Untersuchungen von Brot, Backwaren und Hilfsmitteln. In: Handbuch der Lebensmittelchemie. Bd. V, 1. Teil, S. 373
Springer-Verlag, Berlin, Heidelberg, New York

ROY, R. B. und J. E. KVENBERG (1981)
Determination of insect infestation in food: a semiautomated colorimetric analysis for uric acid with immobilized uricase
J. Food Sci. 46, 1439

RUSCH, E. und A. DEIXLER (1962)
Praktische und theoretische Gesichtspunkte für die Wahl des Zentralwertes als statische Kenngröße für die Lage eines Verteilungszentrum
Qualitätskontrolle 7, 128

SALOW, H. und W. RÖHR (1967)
Zum Vorkommen von Salmonellen in Flüssigei (Volleigußmasse) und Schiereiern
Monatsh. Veterinärmed. 22, 674

SALTON, M. R. J. (1957)
The properties of lysozyme and its action on microorgamisms
Bacteriol. Rev. 21, 82

SASHIHARA, N., H. MIZUTANI, S. TAKAYAMA, H. KONUMA, A. SUZUKI und C. IMAI (1979)
Bacterial contamination of liquid (frozen) whole egg
J. Food Hyg. Soc. Jap. 20, 127

SAVI, P. (1973)
Frozen egg products
Scie. Aliment. 19, 87

SAUTER, E. A. und C. F. PETERSEN (1974)
The effect of egg shell quality on penetration by various salmonellae
Poult. Sci. 53, 2159

SCHADE, A. L. (1963)
Significance of serum iron for the growth, biological characteristics, and metabolism of Staphylococcus aureus
Biochem. Z. 338, 140

SCHADE, A.L. und L. CAROLINE (1944)
Raw hen egg white and the role of iron in growth inhibition of Shigella dysenteriae, Staphylococcus aureus, Escherichia coli and Saccharomyces cerevisiae
Science 100, 14

SCHMIDT, W. J. (1961)
Über das Schleimhäutchen der Vogeleischale, insbesondere bei Phoenicopterus, Aptenodytes und Spheniscus
J. Orn. Lpz. 102, 456

SCHNEITER, R., M. F. BARTRAM und H. A. LEPPER (1943)
Bacteriological and physical changes occuring in frozen eggs. Influence of defrosting and prolonged storage on bacterial counts and on odour
J. Assoc. Off. Agric. Chem. 26, 172

SCHOLTYSSEK, S. (1979)
Neuere Arbeiten auf dem Gebiet der Eitechnologie
Z. Lebensmittel-Technol. u. Verfahrenstech. 30, 237

SCHOLTYSSEK, S., G. SEEMANN, W. PHILIPP und A. EL-BOGDADY (1981)
Der Einfluß des Ialters und des Pasteurisierens auf die Qualität von Vollei
Archiv f. Geflügelk. 45, 201

SCHOTHORST VAN, M. und F. M. VAN LEUSDEN (1977)
Microbiological specifications for egg products
Voedingsmiddelentechnologie 10, 16

SCOTT, D. (1953)
Glucose conversion in preparation of albumen solids by glucose oxidase-catalase system
J. agric. Food. Chem. 1, 727

SEN, N. P. (1968)
Uric acid as an index of insect infestation in flour
J. Assoc. Off. Anal. Chem. 51, 785

SEN, N. P. und A. W. VAZQUEZ (1969)
Correlation of uric acid content with fragment counts in insect-infested flours and wheat grains
J. Assoc. Off. Anal. Chem. 52, 833

SEVIOUR, E. M. und R. G. BOARD (1972)
The behaviour of mixed bacterial infections in the shell membranes of the hen's egg
Br. Poult. Sci. 13, 33

SHARP, P. F. (1937)
Preservation and storage of hen's eggs
Food Res. 2, 477

SHARP, P. F. und G. F. STEWART (1936)
Effect of relative humidity on growth of molds on eggs in storage
Mem. Cornell Univ. Agric. Exp. Stn. 91, 1

SHARP, P.F. und R. WHITAKER (1927)
The relation of hydrogen ion concentration of egg white to its germicidal action
J. Bact. 14, 17

SINELL, H. J. (1967)
Standardisierung der Methoden in der Lebensmittelüberwachung
Arch. Lebensmittelhyg. 18, 193

SINELL, H. J. (1971)
Bewertung der hygienischen Qualität von Lebensmitteln nach mikrobiologischen Gesichtspunkten
Fleischwirtschaft 51, 767

SINELL, H. J. (1980)
Einführung in die Lebensmittelhygiene
Pareys Studientexte Nr. 21; Verlag Paul Parey, Berlin, Hamburg

SINELL, H. J., G. REUTER und F. UNTERMANN (1965)
Zur Standardisierung der aeroben Gesamtkeimzahlbestimmung in Fleisch und Fleischerzeugnissen. 1. Mitteilung: Prüfung von Nährböden und Beimpfungsverfahren
Arch. Lebensmittelhyg. 16, 217

SINELL, H. J., G. REUTER und F. UNTERMANN (1966)
Zur Standardisierung der aeroben Gesamtkeimzahlbestimmung in Fleisch und Fleischerzeugnissen. 2. Mitteilung: Prüfung von verschiedenen Probenzerkleinerungs- und Verdünnungsverfahren
Arch. Lebensmittelhyg. 17, 25

SINELL, H.J. und J. BAUMGART (1967)
Selektivnährböden mit Eigelb zur Isolierung von pathogenen Staphylokokken aus Lebensmitteln
Zbl. Bakt. I. Orig. 204, 248

SMITH, C. F. (1959)
Shell deterioration: Diffusion of yolk lipids into albumen as the natural causes of failures in performance
Poult. Sci. 38, 181

SMITH, F. R. (1958)
The effect of natural and laboratory digestion on the microscopic appearance of certain animal hairs
J. Assoc. Off. Anal. Chem. 41, 479

SMITH, J.H. (1958)
Some properties of the median as an average
Amer. Statistician 12, 24

SOLOWEY, M., E. H. SPAULDING und H. E. GORESLINE (1946)
An investigation of a source and mode of entry of Salmonella organisms in spray dried whole egg powder
Food Res. 11, 380

SOUCI, S. W., W. FACHMANN und H. KRAUT (1979)
Die Zusammensetzung der Lebensmittel: Nährwerttabellen
Wiss. Verlagsgesellschaft MBH, Stuttgart

STADE, V. und R. DUNG (1980)
Eier und Eiprodukte in Lebensmitteln
AID Verbraucherdienst 25, 204

STARK, C. N. und P. F. SHARP (1927)
The relation between hydrogen ion concentration of egg white and the growth of anaerobes
J. Bact. 13, 59

STEIN, W. (1977)
Bedeutung der Fliegen in der Lebensmittelhygiene
Z. Lebensmittel-Technol. u. Verfahrenstech. 28, 177

STEINER, G. (1982)
Untersuchungen zum Keimgehalt und zur Dynamik pathogener Keime in Vollei flüssig
Monatsh. Veterinärmed. 37, 875

STEPHENS, R. L. (1967)
Extraneous materials in dairy products: cheese
J. Assoc. Off. Anal. Chem. 50, 501

STEWART, G. F. (1935)
The structure of the hen's egg shell
Poult. Sci. 14, 24

STOKES, J. L. und W. W. OSBORNE (1956)
Effect of the egg shell membrane on bacteria
Food Res. 21, 264

STOLL, U. (1982)
Abbau von Casein und Eialbumin mit Enzymen des Verdauungstraktes
Lebensmittelchem. Gerichtl. Chem. 36, 138

STREICHAN, D. (1966)
Die Beeinflussung des Keimgehaltes von Gefriervollei durch die Behandlung vor dem Gefrieren
Arch. Lebensmittelhyg. 17, 176

STUART, L. S. und E. H. McNALLY (1943)
Bacteriological studies on the egg shell
U.S. Egg Poult. Mag. 49, 28, 45

SUZUKI, A., T. KAWANISHI, H. KONUMA, S. TAKAYAMA, C. IMAI und J. SAITOH (1981)
Salmonella and Staphylococcus aureus contamination in liquid whole eggs
J. Food Hyg. Soc. Jap. 22, 223

SUZUKI, A., H. KONUMA, C. IMAI, H. MIZUTANI und N. SASHIHARA (1979)
Bacterial contamination of liquid whole egg products
J. Food Hyg. Soc. Jap. 20, 247

SYKES, A. H. (1971)
Formation and composition of urine. In: Physiology and Biochemistry of the domestic fowl. Bd. I, S. 233
Academic Press, London, New York

TEASLEY, J. I. (1963)
Extraneous materials in cacao products
J. Assoc. Off. Agric. Chem. 46, 695

THAPON, J. L., G. BRULE, J. FAUQUANT und M. THIREAU (1979)
Effect of various technical treatments on the quality of industrial egg white
Indust. Aliment. Agric. 96, 263

THEFELD, W., H. HOFFMEISTER, E. W. BUSCH, P. U. KOLLER und J. VOLLMAR (1973)
Normalwerte der Serumharnsäure in Abhängigkeit von Alter und Geschlecht mit einem neuen enzymatischen Harnsäure-Farbtest
Dtsch. med. Wochenschr. 98, 380

THEODORE, T. S. und A. L. SCHADE (1965)
Carbohydrate metabolism of iron-rich and iron-poor Staphylococcus aureus
J. Gen. Microbiol. 40, 385

TURNER, A. W. und L. ARNOLD (1939)
Factors involved in the microbic invasion of hen's eggs
U.S. Egg Poult. Mag. 45, 599, 626

ULRICH, W. (1971)
Erfahrungen bei der hygienischen Betriebskontrolle
Getreide u. Mehl 5, 43

UNTERMANN, F. (1970)
Varianzanalytische Untersuchungen über die Fehlergröße der "drop-plating"-Technik bei kulturellen Keimzahlbestimmungen an Lebensmitteln
Zbl. Bakt. Parasit. Infektionskr. Hyg. I. Orig. 215, 563

U.S. DEPARTMENT OF AGRICULTURE (1967)
Egg pasteurization manual. Agricultural research service. Western utilisation research and development division. Albany California.
Zit. Kiefer (1976)

VADEHRA, D. V., R. C. BAKER und H. B. Naylor (1970)
Role of cuticle in spoilage of chicken eggs
J. Food Sci. 35, 5

VANCURA, V. (1974 a)
Mikrobiologische Qualität von Vollei
Alimenta 13, 77

VANCURA, V. (1974 b)
Pasteurisation der Eiprodukte
Alimenta 13, 11, 16

VAZQUEZ, A. W. und J. C. COOPER (1964)
Enzymatic digestion of tomato products for determination of fly eggs and maggots
J. Assoc. Off. Agric. Chem. 47, 531

WALDEN, C. C., I. V. F. ALLEN und P. C. TRUSSEL (1956)
The role of egg shell membranes in resisting the entry of microorganisms
Poult. Sci. 35, 1190

WASSERFALL, F. und M. TEUBER (1979)
Action of egg white lysozyme on Clostridium tyrobutyricum
Appl. Environ. Microbiol. 38, 197

WEBER, H. und H. WEIDNER (1974)
Grundriß der Insektenkunde. 5. Aufl.
Gustav Fischer Verlag, Stuttgart

WEDRAL, E. M., D. V. VADEHRA und R. C. BAKER (1971)
Mechanism of bacterial penetration through the eggs of Gallus gallus. 2. Effect of penetration and growth on permeability of inner shell membrane
J. Food Sci. 36, 520

WESTON, W. A. R. D. und E. T. HALNAN (1927)
"Black spot" of eggs
Poult. Sci. 6, 251

WHEELER, H. H. (1963)
Filth in fruit paste
J. Assoc. Off. Agric. Chem. 46, 690

WILSON, J. E. (1945)
Infected egg shells are a means of the spread of salmonellosis in chicks and ducklings
Vet. Rec. 57, 411

WINKLE, S. und R. RHODE (1950)
Über bisher wenig bekannte Infektionsmöglichkeiten durch importierte Lebens- und Futtermittel, insbesondere pflanzlichen Ursprungs, zugleich als Beitrag zur Epidemiologie der durch pathogene Keime ausgelösten Säuglingsdyspepsien
Münch. med. Wochenschr. 20, 809

WINTER, A.R., G. F. STEWART, V.H. McFARLANE und M. SOLOWEY (1946)
Pasteurization of liquid egg products. III. Destruction of Salmonella in liquid whole egg
Am. J. Pub. Health. 36, 451

WINTER, R. und C. WRINKLE (1949)
The control of bacteria in frozen egg products
U.S. Egg Poult. Mag. 55, (1) 7, 18; (2) 20, 30; (3) 28, 44

WOHLGEMUTH, R. und C. REICHMUTH (1977)
Erhebungen über den Befall von Importgütern durch Vorratsschädlinge bei der Einfuhr in die Bundesrepublik Deutschland (Jahre 1975 und 1976)
Paul Parey-Verlag, Berlin, Hamburg

WOLKEN, J. J. (1951)
Structure of hen's egg membranes
Anat. Rec. 111, 79

WRIGHT, E. P. (1983)
The isolation of Campylobacter jejuni from flies
J. Hyg. 91, 223

WRINKLE, C., H. H. WEISER und A. R. Winter (1950)
Bacterial flora of frozen egg products
Food Res. 15, 91

WUNDRAM, G. und F. SCHÖNBERG (1962)
Tierärztliche Lebensmittelüberwachung. 7. Aufl.
Paul Parey-Verlag, Berlin, Hamburg

YADAV, N. K. und D. V. VADEHRA (1977)
Mechanism of egg white resistance to bacterial growth
J. Food Sci. 42, 97

YAMANAKA, Y. und Y. NONAMI (1979 a)
Studies on pasteurization and quality maintenance of egg for industrial use. IV. Bactericidal efficiency in holding pasteurization of raw liquid egg and changes of bacterial population during frozen storage thereafter
Jap. J. Dairy Food Sci. 28, 129

YAMANAKA, Y. und Y. NONAMI (1979 b)
Studies on pasteurization and quality maintenance of egg for industrial use. V. Holding pasteurization efficiency of contaminated raw liquid egg and the changes of bacterial population during frozen storage thereafter
Jap. J. Dairy Food Sci. 28, 153

ZACHARIAS, R., L. STEINCKE, H. VOGT und H. G. TORGES (1977)
Küchentechnische Verwendung des Hühnereies. In: Eiqualität. Nr. 415, S. 18
Land- u. Hauswirtschaftl. Auswertungs- u. Informationsdienst e.V. (AID), Bonn, Bad Godesberg

ZACHER, F. und B. LANGE (1964)
Vorratsschutz gegen Schädlinge
Paul Parey-Verlag, Berlin, Hamburg

ZAGAEVSKY, J. S. und P. O. LUTIKOVA (1944)
Sanitary measures in the egg breaking plant
U.S. Egg Poult. Mag. 50, 17, 43, 75, 89, 121

ZAHN, H. (1950)
Sammelreferat über Histologie, Feinstruktur, Chemie und Technologie der Keratine
Das Leder 1, 222

ZIPFEL, W. (1983)
Lebensmittelrecht. Kommentar der gesamten lebensmittelrechtlichen Vorschriften. Bd. II
C. H. Beck'sche Verlagsbuchhandlung, München

ZMP (1981)
Zentrale Markt- und Preisberichtstelle für Erzeugnisse der Land-, Forst- und Ernährungswirtschaft
GmbH Verlag ZMP, Bonn, Bad Godesberg
Zit. Scholtyssek et al. (1981)

8. ANHANG

Zusammenstellung der Untersuchungsergebnisse

Die in den folgenden Tabellen angegebenen Keimzahlen beziehen sich auf 1 g des Untersuchungsmaterials und sind stets als dekadische Logarithmen angegeben.
Die untere Nachweisgrenze beträgt 1.00 (Herkunft: A) bzw. 2.00 (Herkunft: B, C).

FLÜSSIGEIKLAR - Frühjahrsproben (10°C)

Nr.	Herkunft	Entnahme	Isoagar (aerob)	VG-Agar (anaerob)	VL-Agar (anaerob)	KRANEP-Agar (aerob)	En-Agar (aerob)	La-Agar (anaerob)	Ls-Agar (anaerob)
1	B	15.3.83	5.75	4.94	3.88	<2.00	4.58	5.04	3.86
2			5.66	4.85	4.20	<2.00	4.41	5.08	3.41
3		22.3.83	5.30	5.81	5.00	2.78	3.68	4.87	2.60
4			5.89	6.26	4.64	2.90	4.20	4.98	2.78
5			5.78	4.97	4.08	<2.00	3.86	4.94	3.08
6	A		2.62	1.30	<1.00	<1.00	<1.00	2.15	<1.00
7			2.38	<1.00	<1.00	<1.00	<1.00	1.78	<1.00
8		11.4.83	2.48	1.78	<1.00	2.60	<1.00	1.30	<1.00
9			2.70	2.30	1.30	2.41	<1.00	2.00	<1.00
10			2.68	2.08	1.51	1.68	<1.00	2.15	<1.00

FLÜSSIGEIKLAR - Frühjahrsproben (10°C)

GSP-Agar (aerob)	Insekten-partikel	Haar-fragmente	Eischalen-reste	Harn-säure	pH-Wert	Bemerkungen Aussehen, Konsistenz, Geruch
	(Partikel/10ml)			(mg/100g)		
4.90	-	1	-	0.858	9.15	
4.93	-	2	4	1.010	9.20	
4.82	-	-	6	0.958	9.10	normal
4.78	1	-	-	1.030	9.20	
4.68	-	-	4	0.942	9.20	
<1.00	-	-	>50	1.136	9.30	
<1.00	-	-	34	1.112	9.20	
<1.00	-	-	>50	0.868	8.90	Eischalenreste
<1.00	-	-	>50	0.944	9.15	
<1.00	-	-	42	0.892	9.00	

FLÜSSIGEIKLAR - Sommerproben (27°C)

Nr.	Herkunft	Entnahme	Isoagar (aerob)	VG-Agar (anaerob)	VL-Agar (anaerob)	KRANEP-Agar (aerob)	En-Agar (aerob)	La-Agar (anaerob)	Ls-Agar (anaerob)
11	B	21.6.83	6.62	5.64	5.00	<2.00	<2.00	6.15	4.98
12			6.78	5.48	5.26	<2.00	<2.00	6.51	4.91
13			6.51	5.79	5.08	<2.00	<2.00	5.98	5.08
14			6.00	5.45	4.78	<2.00	<2.00	6.00	5.26
15			6.79	6.26	5.30	<2.00	<2.00	6.20	4.78
16			6.60	5.41	4.90	<2.00	<2.00	6.08	5.00
17		22.6.83	6.26	5.08	4.78	<2.00	3.78	5.68	4.51
18			6.34	5.30	4.83	<2.00	<2.00	5.88	3.98
19			6.38	5.00	4.78	2.30	3.08	5.82	3.38
20			6.00	4.91	4.38	<2.00	3.78	4.78	3.08

FLÜSSIGEIKLAR - Sommerproben (27°C)

GSP-Agar (aerob)	Insekten-partikel	Haar-fragmente	Eischalen-reste	Harn-säure	pH-Wert	Bemerkungen Aussehen, Konsistenz, Geruch
	(Partikel/10ml)			(mg/100g)		
4.91	1	-	5	0.921	9.30	
4.30	-	-	4	0.940	9.40	
4.56	-	-	-	0.875	9.30	
5.08	-	-	3	0.923	9.25	
5.20	-	-	7	0.937	9.30	
4.60	-	-	8	0.956	9.25	normal
3.30	-	-	9	1.033	9.40	
4.98	1	-	-	0.898	9.40	
2.38	-	-	2	0.930	9.35	
3.60	-	-	4	0.996	9.40	

FLÜSSIGEIKLAR - Sommerproben (27°C)

Nr.	Herkunft	Entnahme	Isoagar (aerob)	VG-Agar (anaerob)	VL-Agar (anaerob)	KRANEP-Agar (aerob)	En-Agar (aerob)	La-Agar (anaerob)	Ls-Agar (anaerob)
21	B	22.6.83	6.38	5.26	4.86	2.20	3.00	4.68	3.34
22			6.60	5.00	4.60	<2.00	3.70	5.58	4.34
23		23.6.83	6.53	5.53	4.86	<2.00	3.86	5.56	4.08
24			6.51	5.86	5.34	2.30	4.78	6.08	4.98
25			6.20	5.56	4.88	<2.00	4.26	5.91	3.75
26			6.34	5.45	4.72	<2.00	3.60	5.57	4.51
27			6.53	5.41	4.83	<2.00	4.08	5.00	3.88
28			6.20	5.30	4.62	2.26	3.56	5.38	4.20
29		7.7.83	6.79	5.78	5.73	<2.00	2.78	5.90	3.78
30			6.60	6.00	5.45	2.60	<2.00	6.08	5.26

FLÜSSIGEIKLAR - Sommerproben (27°C)

GSP-Agar (aerob)	Insekten-partikel	Haar-fragmente	Eischalen-reste	Harn-säure	pH-Wert	Bemerkungen Aussehen, Konsistenz, Geruch
	(Partikel/10ml)			(mg/100g)		
3.75	-	-	7	1.065	9.40	normal
4.00	-	-	4	0.933	9.40	
4.90	1	-	-	0.889	9.25	
5.60	-	-	5	0.841	9.30	
5.56	-	-	2	0.920	9.30	
5.00	-	-	2	0.906	9.20	
4.94	-	-	-	0.964	9.35	
4.75	-	-	3	0.848	9.30	
5.68	-	-	12	1.060	9.35	
5.51	-	-	6	0.868	9.40	

FLÜSSIGEIKLAR - Sommerproben (27°C)

Nr.	Herkunft	Entnahme	Isoagar (aerob)	VG-Agar (anaerob)	VL-Agar (anaerob)	KRANEP-Agar (aerob)	En-Agar (aerob)	La-Agar (anaerob)	Ls-Agar (anaerob)
31	B	7.7.83	6.60	5.78	5.15	2.30	2.60	5.60	4.20
32			6.62	5.76	5.26	<2.00	3.08	6.15	5.08
33		12.7.83	6.90	5.38	5.26	<2.00	4.51	6.34	4.95
34			6.20	5.60	5.20	<2.00	4.15	6.20	3.76
35			6.48	5.76	5.64	<2.00	4.53	6.26	4.38
36			6.60	5.64	5.48	<2.00	4.95	6.00	4.30
37	A	4.7.83	4.83	3.62	2.60	1.90	<1.00	3.00	<1.00
38			4.75	3.48	2.45	<1.00	<1.00	3.98	<1.00
39			4.78	3.34	2.30	1.83	<1.00	2.41	<1.00
40			3.86	3.48	2.45	<1.00	<1.00	3.38	<1.00

FLÜSSIGEIKLAR - Sommerproben (27°C)

GSP-Agar (aerob)	Insekten-partikel (Partikel/10ml)	Haar-fragmente (Partikel/10ml)	Eischalen-reste (Partikel/10ml)	Harn-säure (mg/100g)	pH-Wert	Bemerkungen Aussehen, Konsistenz, Geruch
5.45	-	-	2	0.860	9.30	normal
5.30	2	-	3	0.912	9.30	
5.78	-	-	6	0.954	9.50	
5.38	-	-	4	0.881	9.45	
5.00	-	-	-	0.864	9.40	
5.15	-	-	2	0.934	9.45	
3.38	1	-	45	0.853	9.25	Eischalenreste
3.26	-	-	28	0.918	9.20	
3.08	-	-	>50	1.013	9.20	
3.26	-	-	39	0.887	9.25	

FLÜSSIGEIKLAR - Sommerproben (27°C)

Nr.	Herkunft	Entnahme	Isoagar (aerob)	VG-Agar (anaerob)	VL-Agar (anaerob)	KRANEP-Agar (aerob)	En-Agar (aerob)	La-Agar (anaerob)	Ls-Agar (anaerob)
41	A	4.7.83	3.78	3.30	2.26	<1.00	<1.00	2.90	<1.00
42			4.42	3.56	2.68	1.76	<1.00	3.88	1.83

FLÜSSIGEIKLAR - Sommerproben (27°C)

GSP-Agar (aerob)	Insekten-partikel (Partikel/10ml)	Haar-fragmente (Partikel/10ml)	Eischalen-reste (Partikel/10ml)	Harn-säure (mg/100g)	pH-Wert	Bemerkungen Aussehen, Konsistenz, Geruch
3.48	-	-	>50	0.940	9.25	Eischalenreste
3.70	-	-	27	0.978	9.30	

FLÜSSIGVOLLEI - Frühjahrsproben (10°C)

Nr.	Herkunft	Entnahme	Isoagar (aerob)	VG-Agar (anaerob)	VL-Agar (anaerob)	KRANEP-Agar (aerob)	En-Agar (aerob)	La-Agar (anaerob)	Ls-Agar (anaerob)
1	B	17.3.83	6.45	5.64	5.00	3.88	2.60	5.64	4.04
2			7.18	6.70	6.20	3.41	3.60	6.62	5.34
3		22.3.83	7.04	6.64	5.91	3.82	3.62	6.62	5.91
4			6.95	6.90	6.34	3.98	3.00	6.79	5.00
5			6.68	6.34	5.83	3.51	3.08	6.38	3.90
6	A	11.4.83	2.51	<1.00	<1.00	2.34	<1.00	1.78	<1.00
7			2.70	<1.00	<1.00	2.38	<1.00	1.62	<1.00
8			2.89	2.30	<1.00	2.41	<1.00	1.68	<1.00
9			3.00	2.78	<1.00	2.48	<1.00	1.90	<1.00
10			2.81	2.08	<1.00	2.26	<1.00	1.96	<1.00

FLÜSSIGVOLLEI - Frühjahrsproben (10°C)

GSP-Agar (aerob)	Insekten-partikel	Haar-fragmente	Eischalen-reste	Harn-säure	pH-Wert	Bemerkungen
	(Partikel/10ml)			(mg/100g)		Aussehen, Konsistenz, Geruch
5.64	-	2	-	0.901	7.70	
6.68	-	-	6	1.104	7.60	
6.41	-	-	-	1.014	7.45	
6.15	-	-	4	1.080	7.60	
5.75	1	-	-	1.096	7.55	
<1.00	-	-	>50	1.124	7.60	normal
<1.00	-	3	27	1.090	7.65	
<1.00	-	-	35	0.938	7.70	
<1.00	-	-	31	1.146	7.90	
<1.00	2	-	>50	1.032	7.60	

FLÜSSIGVOLLEI - Sommerproben (27°C)

Nr.	Herkunft	Entnahme	Isoagar (aerob)	VG-Agar (anaerob)	VL-Agar (anaerob)	KRANEP-Agar (aerob)	En-Agar (aerob)	La-Agar (anaerob)	Ls-Agar (anaerob)
11	B	6.7.83	8.00	6.79	6.00	3.66	4.56	7.26	6.08
12			7.53	7.30	6.75	3.30	4.94	6.90	4.92
13			7.58	7.76	6.30	3.56	4.64	7.00	4.56
14			8.08	6.30	5.95	3.53	4.53	7.78	6.72
15			8.00	6.78	6.30	4.08	4.86	6.60	5.53
16			8.60	6.60	6.15	3.60	4.51	7.00	4.78
17		27.7.83	8.15	7.45	7.30	5.26	5.60	7.34	4.15
18			8.42	7.72	6.53	4.34	4.26	7.88	5.90
19			8.20	7.34	7.08	5.00	5.60	8.08	5.45
20			8.68	7.80	6.62	4.45	4.30	7.92	6.20

FLÜSSIGVOLLEI - Sommerproben (27°C)

GSP-Agar (aerob)	Insekten-partikel (Partikel/10ml)	Haar-fragmente (Partikel/10ml)	Eischalen-reste (Partikel/10ml)	Harn-säure (mg/100g)	pH-Wert	Bemerkungen Aussehen, Konsistenz, Geruch
6.60	-	-	3	0.953	7.40	
6.78	-	-	2	1.145	7.60	
6.30	-	-	-	0.889	7.65	
6.78	-	-	4	1.242	7.30	
7.15	-	-	3	0.991	7.40	
6.00	-	-	5	1.018	7.35	normal
7.66	1	-	-	0.992	7.50	
7.30	-	-	6	1.152	7.30	
7.90	-	-	-	1.069	7.40	
7.15	-	-	3	0.960	7.25	

FLÜSSIGVOLLEI - Sommerproben (27°C)

Nr.	Herkunft	Entnahme	Isoagar (aerob)	VG-Agar (anaerob)	VL-Agar (anaerob)	KRANEP-Agar (aerob)	En-Agar (aerob)	La-Agar (anaerob)	Ls-Agar (anaerob)
21	B	27.7.83	8.30	7.30	6.60	5.00	5.60	8.08	7.08
22			8.83	7.87	6.72	4.98	5.00	7.99	5.93
23			8.96	8.20	7.48	5.15	5.78	8.53	6.96
24			8.53	8.30	7.75	4.30	4.94	7.90	5.78
25	A	4.7.83	5.00	3.34	2.41	2.08	<1.00	3.15	1.83
26			5.62	4.58	2.66	<1.00	<1.00	5.00	2.34
27		—	5.08	3.15	2.26	1.60	<1.00	3.08	<1.00

FLÜSSIGVOLLEI - Sommerproben (27°C)

GSP-Agar (aerob)	Insekten-partikel	Haar-fragmente	Eischalen-reste	Harn-säure	pH-Wert	Bemerkungen Aussehen, Konsistenz, Geruch
	(Partikel/10ml)			(mg/100g)		
7.90	-	-	4	1.108	7.45	
7.93	-	-	-	0.986	7.30	
8.20	-	-	2	1.176	7.20	
7.82	2	-	6	1.231	7.35	normal
3.48	-	-	>50	1.132	7.65	
4.48	-	-	32	1.258	7.70	
3.78	-	-	27	1.015	7.60	

FLÜSSIGVOLLEI - Frühsommerproben (15°C)

Nr.	Herkunft	Entnahme	Isoagar (aerob)	VG-Agar (anaerob)	VL-Agar (anaerob)	KRANEP-Agar (aerob)	En-Agar (aerob)	La-Agar (anaerob)	Ls-Agar (anaerob)
28	C	Mai 83	8.00	7.08	6.30	3.08	<2.00	6.60	5.08
29			8.51	7.88	6.53	3.34	<2.00	7.76	5.90
30			8.20	6.90	7.08	2.60	3.26	7.68	4.90
31			8.08	7.30	7.00	4.00	5.78	7.60	5.62
32			8.94	8.15	5.78	4.60	3.60	8.34	6.20
33			8.58	7.26	3.78	3.00	<2.00	7.60	5.08
34			8.45	7.20	5.90	2.30	2.30	7.26	4.58

FLÜSSIGVOLLEI - Frühsommerproben (15°C)

GSP-Agar (aerob)	Insekten-partikel	Haar-fragmente	Eischalen-reste	Harn-säure	pH-Wert	Bemerkungen Aussehen, Konsistenz, Geruch
	(Partikel/10ml)			(mg/100g)		
7.78	-	-	8	0.958	7.45	zähflüssig, fruchtig bis säuerlich
7.86	2	3	28	1.290	7.35	
8.00	3	4	-	1.197	7.20	
8.00	-	-	9	1.142	7.40	
7.93	1	-	6	0.902	7.20	
8.08	-	2	5	1.108	7.25	
7.90	-	2	7	1.221	7.30	

An dieser Stelle möchte ich Herrn Professor Dr. Götz Hildebrandt für die jederzeit gewährte Unterstützung und Beratung bei der Planung und Durchführung der Versuche sowie bei der Abfassung der Arbeit herzlichst danken, weiterhin auch Herrn Prof. Dr. Hans-Jürgen Sinell für die Anregung zu diesem Thema und die Beratung.

Allen Mitarbeitern der Fachrichtung Lebensmittelhygiene danke ich für ihre Hilfsbereitschaft und besonders Frau Dr. Heike Schnüll sowie Frau Dr. Ursula Döring, ehemals Institut für Lebensmitteltechnologie - Frucht- und Gemüsetechnologie - der Technischen Universität Berlin, für ihre Einweisung in die Methodik.

Mein Dank gilt auch der Firma REX DENEKE aus Berlin sowie dem Veterinäruntersuchungsamt Vechta für die großzügige Überlassung des Untersuchungsmaterials.

L E B E N S L A U F

21.09.1956	als 3. Sohn des Dr. med. Heinrich Stuke und seiner Ehefrau Eva, geb. Hoffmann, in Herford geboren
1962 - 1966	Volksschule Falkstraße in Herford
1966 - 1973	Friedrichs-Gymnasium in Herford
1973 - 1975	Hermann-Lietz-Schule auf Spiekeroog
Mai 1975	Abitur
1975 - 1976	Grundwehrdienst
1976 - 1977	Krankenpflegepraktikum
1977 - 1982	Studium der Veterinärmedizin an der Freien Universität Berlin
Juli 1982	Approbation als Tierarzt
seit Juli 1982	Doktorand am Institut für Lebensmittelhygiene, Fleischhygiene und -technologie, Fachrichtung Lebensmittelhygiene des Fachbereichs Veterinärmedizin der Freien Universität Berlin
seit Juni 1983	Wissenschaftlicher Teilzeitassistent in derselben Fachrichtung